

**STREPTOZOTOZIN-DIABETES UND HYPOTHYREOSE
ALS ANGIOPATHIEMODELLE
BEIM HANFORD-MINIATURSCHWEIN**

Hans-Erich Uhlig

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Prof.Dr.med.N.Zöllner

STREPTOZOTOZIN - DIABETES UND HYPOTHYREOSE
ALS ANGIOPATHIEMODELLE
BEIM HANFORD - MINIATURSCHWEIN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von
Hans - Erich Uhlig
aus
Garmisch - Partenkirchen

München 1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr. H. Hess

Mitberichterstatter: Prof. Dr. N. Zöllner

Dekan: Prof.Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 27. Juni 1978



Am 1. August 1944 wurde ich in das Konzentrationslager
Sachsenhausen bei Berlin eingeliefert. Ich wurde
zunächst in das Barackenlager für politische Häftlinge
gebracht. Dort wurde ich in eine Gruppe von
Häftlingen eingeteilt, die aus der Tschechoslowakei
stammten.

Im Lager wurde ich gezwungen, schwere
Arbeiten zu verrichten. Ich wurde
in die Gruppe der Häftlinge eingeteilt,
die für den Bau des neuen
Lagers verantwortlich waren. Ich wurde
in die Gruppe der Häftlinge eingeteilt,
die für den Bau des neuen
Lagers verantwortlich waren.

Meinen Eltern

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof.Dr. Hans Hess, Leiter der Angiologischen Ambulanz der Medizinischen Poliklinik der Universität München, für die Überlassung des Themas, sowie für sein mir stets entgegengebrachtes Wohlwollen danken.

Herrn Dr. Markward Marshall, dortigem Assistenzarzt, gilt mein besonderer Dank für seine zahlreichen Ratschläge und seine stete Hilfsbereitschaft in praktischen und theoretischen Fragen, ohne welche eine adäquate Bearbeitung des Themas nicht möglich gewesen wäre.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

A.)	EINLEITUNG,	
	ATHEROSKLEROSETHEORIEN,	
	FRAGESTELLUNG	1
B.)	LITERATURÜBERSICHT	
1.)	Angiopathiemodelle	7
a.)	Kaninchen	8
b.)	Ratten	9
c.)	Primaten	10
d.)	Vögel	11
e.)	Schweine	11
2.)	Experimenteller Diabetes, Experimentelle	
	Hypothyreose	14
C.)	MATERIAL UND METHODIK	
1.)	Tiermaterial	17
2.)	Operationstechnik	17
a.)	Narkose	18
b.)	Implantation von Venenkathetern	18
c.)	Gefäßentnahme, Organentnahme	19
d.)	Thyroidektomie, endogene	
	Hypercholesterinämie	21
3.)	Streptozotocin	21
a.)	i.v. - Injektion	22
b.)	i.p. - Injektion	23
4.)	Versuchsablauf	
a.)	Diabetes - Tiere	24
b.)	Hypothyreose - Tiere	26
5.)	Diagnostik, Bestimmungsmethoden	26
6.)	Rasterelektronenmikroskopie, Histologie ..	28

D.) E R G E B N I S S E

I.) Diabetes - Tiere

1.) Verlauf	30
2.) Routinediagnostik	30
3.) Hormonbestimmungen	31
4.) Glucosebelastungen, Euglucontests	33
a.) vor Streptozotozin	33
b.) nach 30 mg/kg Streptoz., i.v. ..	35
c.) nach 30 + 60 mg/kg Streptoz., i.v. ..	35
d.) nach 40 mg/kg Streptoz., i.v. ..	40
e.) nach 60 mg/kg Streptoz., i.v. ..	40
f.) nach 70 mg/kg Streptoz., i.v. ..	42
g.) nach 75 mg/kg Streptoz., i.v. ..	42
h.) nach 60 + 70 mg/kg Streptoz., i.v. ..	42
i.) nach 60 mg/kg Streptoz., i.p. ..	43
k.) nach 60 mg/kg, i.p. + 45,6 mg/kg Streptoz., i.v.	43
l.) nach 75 mg/kg Streptoz., s.c. ..	45
5.) Rasterelektronenmikroskopische Gefäßbefunde, Histologie, Augenfundusuntersuchungen ..	46

II.) Hypothyreose - Tiere

1.) Verlauf	49
2.) Routinediagnostik	49
3.) Rasterelektronenmikroskopische und histologische Gefäßbefunde	50

E.) D I S K U S S I O N

1.) Streptozotozin - Diabetes	53
2.) Hypothyreose	59

F.) Z U S A M M E N F A S S U N G 63

G.) B I B L I O G R A P H I E 65

A.) Einleitung

Arteriosklerose, sowie deren Folgeerscheinungen wie Herzinfarkt, zerebraler Insult und periphere arterielle Durchblutungsstörungen sind in unserer zivilisierten Welt zum Volksfeind ersten Grades emporgestiegen. Dies ist keineswegs verwunderlich, wenn man sich vor Augen hält, daß die verschiedenartigsten, häufig mit dem materiellen Wohlstand korrelierenden Grunderkrankungen bzw. Umweltfaktoren und Lebensgewohnheiten des Menschen in der Genese obliterierender Gefäßerkrankungen eine entscheidende Rolle spielen.

An erster Stelle unter den allgemein bekannten Risikofaktoren sind das Zigarettenrauchen, die arterielle Hypertonie, sowie die Hyperlipidämie zu nennen. Diabetes mellitus, Alltagserscheinungen wie Bewegungsmangel, Stress und Übergewicht werden als Risikofaktoren zweiter Ordnung, Polyzythämie und Hyperurikämie als Risikofaktoren dritter Ordnung angesehen (9).

Obwohl bekannt ist, daß all diese Faktoren ursächlich für die Entstehung einer Arteriosklerose verantwortlich sind, stehen sich noch verschiedene Theorien gegenüber, die den initialen Mechanismus zu erklären versuchen, der im weiteren Verlauf zu einer obliterierenden Angiopathie führt.

McC. Gill sieht den ersten Schritt in einem genetisch programmierten Einlagerung von Lipiden in glatte Muskelzellen der Gefäßintima. Durch die oben genannten Risikofaktoren kommt es zur Proliferation, Nekrose und Entzündung dieser sogenannten "fatty streaks" und schließlich zur Ausbildung fibröser Plaques (68).

Einen weitgehend ähnlichen atherogenetischen Mechanismus beschreibt die Arbeitsgruppe um R. Ross. Dabei kommt es zur frühzeitigen Einwanderung von Mediamuskelzellen in die Intima, mit nachfolgender Lipideinlagerung. Bei Vorhandensein eines Risikofaktors proliferieren diese Zellen und führen schließlich zu

einer fibromuskulären Intimaverdickung (86 , 62). Unwahrscheinlich dabei ist eine Beziehung zwischen den lipidhaltigen Intimazellen ("fatty streaks") und der Ausbildung fibröser Plaques. Denn Prädilektionsstellen für atherosklerotische Herde sind Orte hoher Blut - Scherkräfte, während sich "fatty streaks" in Bereichen niedriger Scherraten ausbilden (62).

Eine andere Theorie besagt, daß zirkulierende Lipoprotein-Antikörper-Komplexe in die Arterienwand eindringen, präzipitieren und eine Akkumulation von Lipiden und Cholesterin hervorrufen. Diese Antilipoproteine bewirken eine Lipolysehemmung der im Blut transportierten Lipide. Dadurch entsteht die von Beaumont beschriebene "Autoimmune Hyperlipidämie", welche ihrerseits das atherosklerotische Geschehen vorantreibt (6 , 5).

Ebenfalls immunologische Prozesse, jedoch als Folge "parasymphathischer Regulationsstörungen", spielen bei der von Sunder - Plassmann (1975) beschriebenen Atherogenese - Theorie eine Rolle. Zentral beteiligte Organe sind dabei der Thymus als primäres Immunzentrum, sowie die Glandula Thyroidea - Parathyroidea als den Lipidspiegel beeinflussendes, bzw. Calcitonin produzierendes Organ. Sunder - Plassmann belegt seine Ansichten unter anderem durch Versuche an gesunden Kaninchen, wobei es nach Sensibilisierung der Tiere mit sterilem, inaktiviertem Schweineserum und nachfolgender Quetschung eines rechtsseitigen Nervus - vagus - Segmentes zu einem atherosklerotischen Initialmechanismus der thorakalen Aorta kommt : " frische Insudation , teils Schwellung, teils Nekrose des Endothels und ebenso Reaktionen der glatten Muskulatur. "

In diesen Versuchen konnten - so der Autor - " geradezu groteske arteriosklerotische Verkalkungen und Läsionen erzielt "...werden, " wenn der Parasympathikus - Effekt auf Schilddrüse und Thymus mit Depression der Calcitonin bildenden C - Zellen durch Thio - urazil noch potenziert wurde. " (95).

T. Shimamoto geht von der Beobachtung aus, daß sich Gefäßendothelzellen kontrahieren, wenn sie mit Cholesterin, Adrenalin, Angiotensin II und anderen Stoffen in Berührung treten. Die dadurch induzierte Einwanderung von beta - Lipoproteinen in den subendothelialen Raum und die Anhaftung von Thrombozyten stellen hierbei den Schlüsselmechanismus zur Atherogenese dar (90) .

Dieser Arbeit liegt die von Hess, Frost, Marshall und Mallasch beschriebene Theorie zugrunde, die in der frühzeitigen Thrombozytenadhäsion an der Gefäßwand ein gemeinsames, zentrales Geschehen in der Pathogenese aller obliterierender Angiopathien sieht (38 , 28 , 29 , 39) . Dabei muß nicht eine primäre Schädigung der Gefäßwand und der damit verbundenen Freilegung der subendothelialen Kollagenschicht im Vordergrund stehen (30), sondern es genügt die in Tierexperimenten und Befunden am Menschen begründete Tatsache, daß Thrombozyten durch eine Vielzahl von Faktoren in eine Reizform übergeführt werden können. In dieser Reizform haben die Blutplättchen die Tendenz miteinander zu aggregieren oder sich an einer Gefäßwand anzuhaften. Erstaunlich dabei ist zweierlei :

- 1.) Die gereizten Thrombozyten benötigen keinen Initiator (i.e. subendotheliales Kollagen), um am Endothel adhärent zu werden, sie tun dies auch an einer licht- und rasterelktronenmikroskopisch völlig intakt erscheinenden Gefäßwand.
- 2.) Die oben erwähnten Faktoren, die den Thrombozyten in seine Reizform überführen, entsprechen den Risikofaktoren für obliterierende Angiopathien (38 , 42) .

Physiologischerweise ist der im Blut strömende Thrombozyt ein ellipsoides Körperchen von 1 - 2 μ m Durchmesser. In dieser Ruheform zeigt er keine Tendenz zu aggregieren bzw. sich an einer intakten Gefäßwand anzulagern. In seiner Reizform da -

gegen erscheint er als ein kugeliges, mit dünnen Fortsätzen, sogenannten Pseudopodien, behaftetes Körperchen. Wirken ein oder mehrere Risikofaktoren, insbesondere inhalierendes Zigarettenrauchen und erhöhte Cholesterinblutspiegel, entweder direkt auf den Thrombozyten oder indirekt über das Endothel ein, so beginnt der Thrombozyt sich frühzeitig - jetzt in seiner Reizform - an das Gefäßendothel anzuhaften. Diesen Vorgang konnte die Arbeitsgruppe um Hess und Marshall (1975) in experimentellen Studien am Hanford - Miniaturschwein nachweisen (64) .

Im Verlauf der Plättchenadhäsion am Endothel werden die Thrombozytenorganellen aktiv entspeichert. Dabei kommt es zur Freisetzung einer großen Anzahl von Substanzen (u.a. ADP, Serotonin, Histamin, Adrenalin, Fibrinogen, Ca^{++} , Plättchenfaktor 3), von denen einige die Endothelpermeabilität für atherogene Fette erhöhen (76 , 78) und zur Proliferation glatter Muskelzellen führen (86 , 62) . Gresham (1975) schreibt dazu : " Die Risikofaktoren Rauchen, Hypercholesterinämie "...können alle in die Theorie eingegliedert werden, daß eine durch Thrombozyten vermittelte Permeabilitätserhöhung des Endothels den ersten Schritt in der Atherogenese darstellt. " (35).

Das Gefäßendothel ist offenbar in der Lage, pathologische Thrombozytenadhäsionen über viele Jahre zu tolerieren, ohne daß es zu klinisch faßbaren Gefäßveränderungen kommt. Es geht sogar soweit, daß die Plättchen -ohne eine Spur zu hinterlassen- in der Gefäßwand verschwinden können. Unbeantwortet dabei ist die Frage, ob die Thrombozyten als " mobile Phase der Gefäßwand " in diese integriert werden, oder ob z. B. Makrophagen für ihre Elimination verantwortlich sind.

Überschreitet schließlich die Einwirkungsdauer bzw.-frequenz die Toleranzgrenze der Arterienwand, kommt es durch Fett -

und Cholesterineinlagerung zur Ausbildung klinisch relevanter atherosklerotischer Herde (89) . —

Es ist eine Herausforderung an die experimentelle Medizin , Tiermodelle zu entwickeln, die zur Erforschung der Athero - genese geeignet sind. Um frühzeitige Veränderungen der Blutgefäße erfassen zu können - und gerade um diese haben sich die verschiedensten Theorien entwickelt (siehe oben) - sind zu - meist eingreifende Untersuchungen am lebenden Objekt, wie zum Beispiel Gefäß - und Organentnahmen für histologische und elektronenmikroskopische Zwecke, unerlässlich.

Es versteht sich von selbst, daß der lebende Mensch als ei - gentlich interessierende Spezies für derartige Untersuchungen weitgehend auszuschließen ist. Aus diesem Grund müssen Tiere gefunden werden, deren formale und kausale Atherogenese der des Menschen weitgehend entspricht, oder - im Idealfall - identisch ist. Nur dann ist es möglich und zulässig, aus ex - perimentell erhobenen Befunden am Tiermodell, therapeutische und eventuell prophylaktische Konsequenzen für den Menschen abzuleiten.

Wie im Kapitel Literaturübersicht dargestellt, gibt es be - reits eine ganze Reihe verschiedener Tiermodelle, die je nach wissenschaftlicher Fragestellung für die Arteriosklerose - forschung geeignet erscheinen.

Handelt es sich um ätiologische oder morphologische Studien, wie in der vorliegenden Arbeit, müssen Versuchstiere Verwend - ung finden, deren arteriosklerotisches Geschehen möglichst viele Analogien zum Menschen auf weist. Wie weiter unten dar - gestellt, eignen sich hierfür Schweine und Primaten in be - sonders hohem Maße.

Ziel dieser Arbeit war es, zwei Arten von " Risikofaktoren ", die beim Menschen bekanntermaßen eine statistische Beziehung zur Atherosklerose haben, bei Miniaturschweinen zu induzieren und die daraus sich entwickelnden morphologischen Gefäßveränderungen mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops aufzuzeigen und zu prüfen, ob und inwiefern es zu Einflüssen auf eine Reihe von Plasmaparametern kommt.

Als " Risikofaktoren " wurden ein durch Streptozotizin induzierter Diabetes mellitus, sowie eine Hypothyreose durch Thyroidektomie -in der Hoffnung, dadurch eine endogene Hypercholesterinämie zu erzeugen- gewählt.

Nebenbei sollte geprüft werden, auf welche Weise der Streptozotizin - Diabetes beim Schwein am einfachsten, aber dennoch zuverlässig induziert werden kann.

Erfahrungen darüber liegen von anderen Arbeitsgruppen in der Literatur bisher noch nicht vor (67) .

8.) Literaturübersicht

1.) Angiopathiemodelle

Bevor auf die Tierarten, die in der experimentellen Atheroskleroseforschung Verwendung finden, näher eingegangen wird, soll anhand einer Literaturzusammenstellung die Häufigkeit ihres Einsatzes dargestellt werden. Ein Computerauszug, der nach dem Stichwort " experimental atherosclerosis " erstellt wurde, enthielt in nummerierter Reihenfolge insgesamt 243 englischsprachige Arbeitstitel aus den Jahren 1972 - 1975 . Verwertet wurden diejenigen Arbeiten, aus deren Titel die verwendete Tierspezies ersichtlich war (n = 159).

Wie Tabelle 1 (Seite 8) zeigt, sind das Kaninchen mit 35,2 % und die Ratte mit 24,5 % die am häufigsten vertretenen Versuchstiere in der experimentellen Atheroskleroseforschung . Den dritten Platz nehmen die nicht menschlichen Primaten ein. Vögel und Schweine gewinnen offensichtlich in den letzten Jahren an Bedeutung, während andere Tierarten praktisch keine Rolle spielen.

Natürlich muß erwähnt werden, daß diese kleine Zusammenstellung nicht den Anspruch erheben kann, vollständig zu sein (es wurden u.a. nur englischsprachige Titel verwendet), oder gar statistischen Kriterien genügen zu wollen. Auch die Frage, ob die Häufigkeit der verwendeten Versuchstierarten durch gewisse Modeerscheinungen beeinflußt wurde, blieb unberücksichtigt.

Dennoch kann sie einen recht guten Eindruck davon vermitteln, welche Tierarten für die Erforschung der Atherosklerose am attraktivsten erscheinen. —

J a h r	1972	1973	1974	1975	Σ	%
Kaninchen	1	20	24	11	56	35,2
Ratten	2	23	11	3	39	24,5
Primaten	/	3	13	6	22	13,8
Vögel	/	4	4	5	13	8,3
Schweine	/	3	8	/	11	7,0
Hunde	2	3	4	1	10	6,3
Merschweinchen	/	1	1	2	4	2,5
Murmeltiere	/	1	/	/	1	0,6
Schafe	/	/	1	/	1	0,6
Eichhörnchen	/	/	1	/	1	0,6
Rinder	/	/	1	/	1	0,6
					159	100,0

T a b e l l e 1:

Häufigkeit verwendeter Versuchstiere bei experimenteller
Atherosklerose in den Jahren 1972 - 1975 .

a.) Kaninchen

Seit Anitschkov im Jahre 1913 ein experimentelles Atherom in der Kaninchenaorta erzeugen konnte, wird diesem Tier im Rahmen der Arterioskleroserecherche bis in die heutigen Tage besondere Aufmerksamkeit zugestanden (1, 2, 17, 41, 72). Kaninchen sind leicht zu beschaffen, ihre Haltung, Behandlung und Füt -

terung bereiten keine Schwierigkeiten. Was ihre körperliche Größe anbelangt, sind sie geeignet für eine große Anzahl von Eingriffen, Gewebeuntersuchungen und Blutstudien. Kaninchen besitzen eine relativ niedrige spontane Atheroskleroserate, andererseits ist es im allgemeinen leicht, durch entsprechende diätetische Maßnahmen in kurzer Zeit Gefäßläsionen zu erzeugen. Der größte Nachteil besteht darin, daß die Kaninchenatherosklerose weder in ihrer morphologischen Zusammensetzung, noch in ihrer regionalen Verteilung der des Menschen entspricht. Die Läsionen, die beim Kaninchen gefunden werden, bestehen hauptsächlich aus Schaumzell-Formationen (" foam cells "), welche eine geringe Progressivität im Hinblick auf die Entwicklung fortgeschrittener arteriosklerotischer Plaques mit Nekrose, Zellproliferation etc. zeigen (41). Während die humane Atherosklerose hauptsächlich große und mittlere Arterien erfasst und eine stärkere Ausprägung in der abdominalen Aorta zeigt (32), finden sich Gefäßveränderungen beim Kaninchen mehr in kleinkalibrigen Arterien; aortaler Befall manifestiert sich größtenteils in thorakalen Abschnitten (103).

In den letzten Jahren ist es allerdings gelungen, durch die Kombination einer spezifischen Diät (Lipid-reich, Cholesterin-arm) und mehrmaligen Injektionen von Fremdprotein (Pferdeserum), beim Kaninchen Koronargefäßläsionen zu induzieren, die eine gewisse Ähnlichkeit mit der menschlichen, fortgeschrittenen Koronarsklerose aufweisen (Minick et al., 1966; Minick und Murphy, 1973; Hardin et al., 1973) (37 , 72 , 73). Die Kombination von Cholesterin-haltiger Diät mit Hinzugabe von Epinephrin erzielt gleichartige Ergebnisse (Constantinides, 1965) (17).

b.) Ratten

Wissler et al. (1954) konnten zeigen, daß die Ratte keine spontan auftretende Atherosklerose entwickelt (102). Es ist zwar

möglich, Gefäßläsionen experimentell zu induzieren, dies ist aber nur durch relativ aufwendige und unphysiologische Maßnahmen zu erreichen. So beschreibt Thomas und Hartroft (1959) eine wirksame Kombinationsdiät, die aus Fett, Cholesterin, Thiouracil und Na - Cholat besteht (99). Wie beim Kaninchen verteilen sich die atherosklerotischen Gefäßveränderungen hauptsächlich auf kleine Arterien (vor allem in Herz und Niere), sowie auf die Aorta ascendens (O'Neal et al., 1959) (83). Morphologisch bestehen die Läsionen ebenfalls aus Schaumzellen, daneben finden sich lipid-beladene Monozyten und Makrophagen (Suzuki und O'Neal, 1964) (96). Die Ratte bietet auch eine Reihe von Vorteilen. Ihr Stoffwechsel ist sehr gut erforscht, und es ist aufgrund ihrer geringen Größe, ihrer leichten Verfügbarkeit und einfachen Haltung möglich, vergleichende Studien an einer großen Zahl standardisierter Tiere vorzunehmen.

c.) Primaten

Die Primaten, insbesondere Schimpansen und Rhesus - Affen , stehen in ihrer Phylogenese dem Menschen sehr nahe (15) . Durch die Arbeiten von Taylor et al. (1962 , 1963) konnte am Beispiel des Rhesusaffen gezeigt werden, daß die Entwicklung, Verteilung, Spontaninzidenz und Morphologie atherosklerotischer Läsionen eine Reihe von Parallelen zum Menschen aufweisen. In weiteren Arbeiten konnten diese Befunde auch auf andere Affenarten (squirrel monkeys, stump-tailed monkeys) übertragen werden, wobei einschränkend gesagt werden muß, daß jede einzelne Tiergattung ihre eigenen arteriosklerotischen Charakteristika aufweist (97 , 98 , 69 , 104).

Primaten sind typische Allesfresser; ihr Metabolismus ähnelt sehr dem der Menschen, und es ist unschwer möglich, durch geeignete Diäten, die in der Zusammensetzung der menschlichen Nahrung entsprechen, atherosklerotische Läsionen zu induzieren

(48 , 49 , 105 , 4 , 61) .

Für die Atheroskleroseforschung kommt den Primaten weiterhin zugute, daß sie in ihrer Anatomie und Physiologie (Herz - Kreislaufsystem, Ernährung etc.) mit dem Menschen weitgehend übereinstimmen und daß atherosklerotische Läsionen beim Primaten zu den gleichen Komplikationen führen, wie wir sie vom Menschen her kennen (98 , 49).

Auf der anderen Seite gelten diese Versuchstiere als sehr schwierig im Umgang, sie sind teuer in der Anschaffung und es bedarf für ihre Haltung spezieller Käfige und Einrichtungen.

d.) Vögel

Tauben, Truthähne, Hühner und andere Geflügelarten zeigen eine relativ hohe spontane Atheroskleroserate (15). Abgesehen davon bieten sie die gleichen Vor- und Nachteile, wie sie bereits beim Kaninchen besprochen wurden. Ihre Haltung und Anschaffung ist problemlos, und es ist möglich, atherosklerotische Gefäßläsionen durch Verabreichung von Diäthylstilb-östrol oder Cholesterinfütterung experimentell zu induzieren (91 , 50 , 79) .

Die Morphologie atherosklerotischer Herde deckt sich weitgehend mit den Veränderungen, wie man sie beim Kaninchen findet (Schaumzellen). Allerdings liegen die Prädilektionsstellen nicht in der thorakalen Aorta, sondern vielmehr - und hier insbesondere bei der Taube (Clarkson et al., 1959) - in distalen Aortenabschnitten (16 , 80 , 46) .

e.) Schweine

Das Erscheinungsbild obliterierender Gefäßveränderungen beim Schwein gleicht vom Frühstadium bis hin zu den typischen Komplikationen (Herz-, Hirninfarkt) sowohl in seiner Ent-

wicklung, wie auch in seiner morphologischen Ausprägung und Verteilung sehr stark der Arteriosklerose des Menschen.

French und Jennings (1965) fanden bei unbehandelten Schweinen " fatty streaks " (25), und die Arbeitsgruppe um Scott (1972) konnte durch sechs Monate dauernde Cholesterinfütterung das Auftreten von fibrösen Plaques, die denen des Menschen sehr ähnlich waren, beim Schwein nachweisen (88). Schließlich gelang es, auf experimentellem Wege Koronargefäßläsionen zu erzeugen, die an occludierende Atherome erinnerten, wie man sie in menschlichen Herzkranzarterien findet.

Lee et al.(1971) erreichten dies durch Verfütterung einer mit Cholesterin angereicherten Diät über 5 - 6 Monate, in Verbindung mit einer zweimaligen, präcordialen Röntgenbestrahlung von je 1500 rad (51) .

Zu einem sehr ähnlichen Ergebnis kamen Mam et al.(1973), indem sie anstelle der Bestrahlung, noch v.o.r Einsetzen der atherogenen Diät, eine Desendothelialisierung der Koronarien durchführten. Dies geschah durch Zurückziehen eines 1 - 2 cm weit in die Koronarostien eingeführten und anschließend aufgepumpten Fogarty - Ballonkatheters (77).

Schon vor diesen Versuchen konnten Dahme et al.(1968 , 1971) in umfangreichen histologischen und enzymhistochemischen Untersuchungen zeigen, daß der Atherosklerose des Schweins die gleichen Strukturveränderungen zugrunde liegen, wie beim Menschen : Frühzeitige Intimasklerosen, häufig gekennzeichnet durch ausgeprägte Lipideinlagerungen, welche im fortgeschrittenen Lebensalter zunehmen und nicht selten durch Verkalkungsprozesse der Gefäßintima und -media ergänzt werden (18, 19).

Schweine entwickeln eine spontane Atherosklerose. Diese ist altersabhängig und nimmt im Laufe des Lebens zu (85 , 34). Durch Verfütterung fett - und cholesterinreicher Nahrung tritt

die Arteriosklerose früher und in verstärktem Ausmaß ein . Luginbühl und Jones (1965) konnten dies eindrucksvoll demonstrieren, als es bei einer Gruppe von Schweinen zu ausgeprägten zerebralsklerotischen Veränderungen (mit Zerebralinfarkt) kam, die jahrelang menschliche Speiseabfälle fraßen (56).

Neben der großen Ähnlichkeit atherosklerotischer Läsionen bei Mensch und Schwein konnten eine Reihe weiterer Analogien aufgezeigt werden, die das Schwein als Atherosklerosemodell besonders wertvoll erscheinen lassen.

Übereinstimmungen bestehen in der Anatomie und Physiologie von kardio-pulmonalem System, Muskel-Skelett System , Blut , Blutgerinnung, Fibrinolyse, Stoffwechsel einschließlich endokriner Systeme, Verdauung, Größe und Gewicht (65 , 43 , 18 , 27 , 20) .

Eine neueste Untersuchung konnte sogar zeigen, daß das Lipoproteinmuster des Schweins bei der Beurteilung sowohl durch die Lipoproteinelektrophorese als auch durch die analytische Ultrazentrifuge dem des Menschen sehr ähnlich ist (47).

Durch Züchtung von Miniaturschweinen gelang es , ein in der Haltung und Anschaffung billigeres und in der Pflege einfacheres Versuchstier zu schaffen, als es bei den großen , früher verwendeten Hausschweinen der Fall war (43). Daneben zeichnet sich das Miniaturschwein durch besondere Robustheit aus. Häufige, langdauernde und schwierige operative Eingriffe, wiederholte Narkosen, ausgedehnte Wundinfektionen, Venen- und Arterienentnahmen, monatelang liegende Katheter, wiederholte Gewebsentnahmen und verschiedene Diäten werden sehr gut toleriert (65).

Zusammenfassend kann man Kalich (1968) zitieren, der das Schwein, neben dem Menschenaffen, als wichtigstes Versuchstier im Dienste der Menschheit betrachtet (43). Luginbühl

(1970) schreibt, daß das Schwein alle wichtigen Kriterien erfüllt, nach welchen Tiermodelle für Arteriosklerosestudien ausgewählt werden sollten (55) .

2.) Experimenteller Diabetes , Experimentelle Hypothyreose

In der Literatur sind drei Methoden beschrieben, die geeignet sind, einen experimentellen Diabetes zu erzeugen. Die chirurgische Pankreatektomie ist methodisch schwierig, und durch den Verlust des exokrinen Pankreasteils befinden sich die Tiere in einem schlechten Ernährungszustand. Die Art der diabetischen Stoffwechsellaage ist durch einen relativ milden Verlauf gekennzeichnet, da durch die totale Pankreatektomie auch die Glucagonsekretion der alpha - Zellen ausgeschaltet wird (30 , 22).

Daneben gibt es die Möglichkeit, das Pankreas chemisch zu zerstören ("chemische Pankreatektomie"). Am längsten bekannt ist der Alloxandibetes, der von Lukens schon im Jahre 1948 beschrieben wurde (57). Viele Tierspezies, darunter Hunde, Kaninchen, Ratten, Mäuse, Hamster, Schafe, Ziegen und Rhesusaffen, verhalten sich gegenüber der diabetogenen Wirkung des Alloxan relativ unempfindlich. Im Vergleich mit diesen Tieren erweist sich die Alloxan - Resistenz beim Schwein als gesteigert (26 , 12 , 82 , 74). Wegen der allgemeinen Toxizität von Alloxan werden neben der beta - Zellsdestruktion auch andere Organe betroffen; alloxandiabetische Tiere haben in der Regel Nierenschäden (22).

Die Mortalität wird beim Alloxandibetes der Ratte mit 37 % angegeben.

Wesentlich spezifischer gegen die B - Zellen gerichtet ist das aus Streptomyces achromogenes gewonnene Antibiotikum und Zytostatikum Streptozotocin. Es ist eine allgemein zyto -

statisch wirkende Substanz, deren beta-zytotoxischer Effekt nur besonders stark ausgeprägt ist (22 , 81). Bei einigen Tieren, die gegenüber der diabetogenen Wirkung des Alloxan resistent sind, erweist sich Streptozotolin als wirksam (12, 54). Steiner (1970) konnte zeigen, daß die Ratte dosisabhängig mit einem unterschiedlich schweren Diabetes reagiert (93).

Für das Schwein liegen in der Literatur nur Berichte über die Wirkung verschieden hoher Streptozotolin - Einzeldosen vor. 30, 38 und 40 mg Streptozotolin/kg blieben ohne Effekt (67 , 82), während die zweizeitige Applikation von 30 und 60 mg/kg im Abstand von 8 Tagen zu einem Diabetes mit Insulinsekretionsstarre, Hyperglykämie und erhöhten Blutfetten führte (67). Untersuchungen an der Ratte konnten zeigen, daß die generelle Toxizität von Streptozotolin niedriger und die Reproduzierbarkeit charakteristischer Läsionen (Hyperglykämie, B - Zell Destruktion, Katarakt) größer ist als bei alloxan - diabetischen Tieren.

Die Mortalität wird beim Streptozotolindiabetes dieser Spezies mit 8 % angegeben (3).

Bei der Suche nach Literaturstellen über "experimentelle Hypothyreose" fiel das Fehlen von tierexperimentellen Arbeiten dieses Themas auf (Quellensuche durch "Index Medicus"). Es wird nur über Erfahrungen mit verschiedenen Medikamenten berichtet, die entweder infolge Überdosierung oder aufgrund von Nebenwirkungen zu Schilddrüsenunterfunktionszuständen führten. So berichten Lloyd e.a. (1972) und Bennie e.a. (1972) über Hypothyreosefälle nach Lithiumbehandlung (53 , 7), Bürgi und Mitarbeiter (1972) beschreiben ein jodinduziertes Myxödem als Nebenwirkung einer Asthmabehandlung mit hohen Joddosen (13) . Erfahrungen mit anderen thyreostatisch wirkenden Medikamenten liegen von anderen Autoren vor (14 , 23). Über die operative

Thyroidektomie konnten ebenfalls keine tierexperimentellen
Arbeiten gefunden werden. —

C.) M a t e r i e l u n d M e t h o d i k

1.) Tiermaterial

Die Versuche wurden an H a n f o r d - Miniaturschweinen durchgeführt. Ihre Züchtung erfolgte im Institut für Tier - hygiene der Universität München (Vorstand Prof. J. Kalich). Zu Versuchsbeginn wogen die Tiere durchschnittlich 41,4 kg. (32 - 64 kg) und waren entsprechend 3 - 6 Monate alt . Von den insgesamt 10 verwendeten Versuchstieren waren sechs männlich, kastriert.

Zur Induktion eines Diabetes mellitus wurden 7 Tiere mit dem beta-Zytostatikum STREPTOZOTOZIN behandelt, 2 Tiere wurden einer operativen THYROIDEKTOMIE unterzogen; ein Tier starb noch vor Versuchsbeginn während der Einleitung der Narkose, infolge versehentlicher intraarterieller Injektion des Narkotikums.

Die Haltung erfolgte in Einzelkäfigen ohne Auslauf. Zweimal täglich wurde DLG - Schweinemastfutter II (Firma Stettner, München) verfüttert, Wasser stand aus Zapfhähnen, die von den Tieren selbsttätig bedient wurden, ad libitum zur Verfügung. ¹⁾

Vor jedem operativen Eingriff bzw. jeder Blutentnahme zur labordiagnostischen Verwendung wurden die Tiere ca. 18 Stunden nüchtern gehalten.

2.) Operationstechnik

Sämtliche operativen Eingriffe wurden unter streng aseptischen Bedingungen durchgeführt. Das Instrumentarium war mit dem in

¹⁾ Herrn H. Aouini gebührt Dank für die sorgfältige Haltung und Pflege der Versuchstiere.

der Humanchirurgie verwendeten identisch. Bei Eingriffen am Hals, bei denen die Gefahr einer Vagusirritation bestand, wurden zuvor 0,5 mg Atropin intramuskulär gegeben. Zur Verhütung postoperativer Infektionen wurden die Wunden großzügig mit Nebacetin - Spray^R versorgt; die Verabreichung eines Breitbandantibiotikums (6 - 8 ml Tardomyocel comp.^R ad us.vet., i.m.) erschien insbesondere nach größeren Operationen zweckmäßig, wenn Verdacht auf Verunreinigung der Op-Wunden bestand. So verfahren war der postoperative Verlauf bei allen Tieren komplikationslos.

a.) Narkose

Wie in früheren Versuchen bereits bewährt (65, 66), wurden zur Einleitung der Narkose gleichzeitig 10 - 15 mg/kg KG Hypnodil^R (Kombination aus Hypnotikum und Muskelrelaxans: Metomidat) intraperitoneal und 2 - 4 mg/kg KG Stresnil^R (Butyrophenonderivat: Azaperon) als Sedativum intramuskulär verabreicht.

Bei bereits implantierten Venenkathetern wurde Hypnodil^R langsam intravenös gegeben, wobei sich die Dosis auf 3 - 5 mg/kg KG reduzierte. Auf diese Weise war eine ausreichende Narkosetiefe für 30 - 60 Minuten gewährleistet. Dieser Zeitraum konnte jederzeit durch Nachinjektion von 1 - 3 ml Hypnodil^R i.v. verlängert werden.

Eine Intubation des narkotisierten Tieres wurde nur durchgeführt, wenn eine Eröffnung des Thorax zur Herzpräparation (siehe 2 c, S.19) notwendig war.

b.) Implantation von Venenkathetern

Grundsätzlich wurde bei jedem Tier vor Beginn des Versuchs ein venöser Verweilkatheter implantiert. Das Material bestand aus Silikon-Kautschuk, der Außendurchmesser betrug 3,5

Millimeter. Die Gefäßkatheter wurden entweder über eine Vena jugularis interna bzw. externa in die Vena cava superior oder über eine Vena femoralis in die Vena cava inferior vorge - schoben. Die distalen Enden wurden jeweils subkutan zum Nack - ken bzw. Rücken hin verlegt (60).

Somit war es möglich, am wachen Tier verschiedenartige Arbei - ten, wie i.v.-Glucosebelastung, i.v.-Euglucontest und Ge - winnung von Venenblut durchzuführen.

Um eine Thrombosierung zu vermeiden, wurden die Katheter im Abstand von 1 - 2 Tagen mit einer Mischung aus 2 Milli - liter 'Liquemin'^R (= 10 000 E) + 3 Milliliter physiologischer Kochsalzlösung gespült.

c.) Gefäßentnahme, Organentnahme

In verschiedenen Zeitabständen wurden bei den Tieren Arterien - segmente zur histologischen und rasterelektronenmikroskop - ischen Untersuchung entfernt. Dies geschah Wochen od. Monate nach Induktion eines Diabetes bzw. einer Hypothyreose.

Als erstes Gefäß wählte man üblicherweise eine A. carotis. Es folgten abwechselnd die beiden Femoralarterien, die kontra - laterale Carotis und bei Tötung des Tieres der Ramus inter - ventricularis der li. Koronararterie. In diesem Fall wurde solange intubiert, bis das Herz freipräpariert und entnommen war, um einen möglichst kurzen Zeitraum zwischen Vitalität und Fixation zu gewährleisten.

Postmortal wurden zur histologischen Untersuchung bei zwei diabetischen Tieren (Nr. 96 u. 144) Pankreasgewebsstücke ent - fernt, bei einem Tier (Nr. 96) desgleichen Leber- und Nieren - proben.

Die Technik der Gefäßentnahme sei in Stichworten dargestellt: Freipräparation der Arterie - Doppelseitiges Abbinden eines 3 - 4 cm langen Segmentes - Fixierung des noch nicht abge -

trennten Gefäßstückes auf einer untergelegten Korkplatte mit Hilfe von Stecknadeln (zur Erhaltung der ursprünglichen Länge, siehe Abbildung 1) - Abtrennen - Herausnehmen.

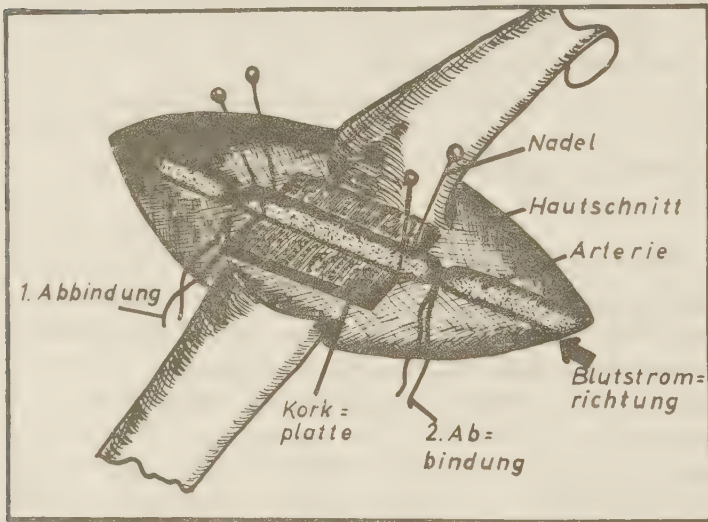


Abbildung 1 :

Schematische Darstellung des Operations-Situs vor Herausnahme eines Arteriensegmentes.

Im weiteren Verlauf wird das Arteriensegment der Länge nach eröffnet, wiederum mit Nadeln aufgespannt und vorsichtig mit körperwarmer, physiolog. Kochsalzlösung bzw. Puffer abgespült, um nicht adhärenzte Blutbestandteile zu entfernen.

a.) Thyroidektomie , endogene Hypercholesterinämie

Nach Anlegen eines bogenförmigen Kragenschnittes unmittelbar oberhalb des Sternums wurde unter Schonung des Thymus die Schilddrüse freipräpariert. Es wurden die Aa. thyroideae superiores et inferiores und weitere versorgende Arterien aufgesucht und doppelt unterbunden.

Da beim Schwein die Epithelkörperchen relativ weit verstreut liegen, ist es möglich, ohne Konsequenzen auf den Calcium - Stoffwechsel, die Thyroidea en bloc zu resezieren. Bei uns gelang dies nur mit größter Mühe, da der untere Schilddrüsenpol bei den Tieren, auch in früheren Versuchen, sehr weit nach retrosternal reichte.

Von den beiden thyroidektomierten Tieren (Nr. 122 , 138) wurde einem Tier (Nr.122), 30 Tage post operationem, eine Cholesterin-reiche Nahrung verfüttert. Sie wurde selbst hergestellt durch Hinzufügen von 1% Cholesterin zum üblichen Schweinemastfutter.

3.) Streptozotolin

Streptozotolin wurde vom Hersteller ²⁾ in Pulverform geliefert. Es wurde in Natriumcitrat - Puffer gelöst (0,1 M;pH 4,5), bei einer Konzentration von 30 mg/ml.

Die Verabreichung erfolgte bei fünf Schweinen (Nr.96, 124 , 127, 139, 141) intravenös, bei zwei Schweinen (Nr.144, 146) intraperitoneal.

2) Versuchsmengen verdanken wir den Firmen Hoechst AG - Frankfurt , Boehringer - Mannheim und der Deutschen Gesellschaft für Angiologie.

Im übrigen bezogen wir Streptozotolin von der R. Päsel KG , Frankfurt/Main (bzw. Calbiochem , Schweiz).

a.) i.v. - Injektion

Streptozotocin wurde jeweils um die Mittagszeit appliziert. Die Tiere bekamen den ganzen Tag über kein Futter, allerdings erfolgte etwa 2 - 3 Stunden vor jeder Streptozotocin - Injektion eine i.v.-Glucosebelastung (0,33 g Gluc./kg KG). Zur streßfreien Durchführung der Versuche wurden den Tieren einige Tage zuvor Venenkatheter implantiert.

Nach einer Anfangsdosis von 30 mg/kg KG folgte im Abstand von 8 Tagen eine Streptozotocin-Dosis von 60 mg/kg KG. Eine Ausnahme bildete Schwein Nr.96 : Hier lag die Erstdosis bei 60 mg/kg KG, die Zweitdosis -2 Monate später- betrug 70 mg/kg KG.

Bei den Schweinen Nr. 96, 124 und 127 erfolgte die Applikation **l a n g s a m** über 5 Minuten, bei den Schweinen Nr. 139 und 141 im Bolus **s e h r s c h n e l l** .

Bei der Frage, ob eine Beziehung zwischen der Streptozotocin Dosis bzw. -Injektionsgeschwindigkeit und der Schwere des Diabetes besteht, sowie bei der Auswertung der Routinediagnostik, wurden Labordaten aus früheren Versuchen mitberücksichtigt, bei denen Streptozotocin in Dosen von 40 mg/kg KG (Schwein Nr.81), 70 mg/kg KG (Schwein Nr.94) und 75 mg/kg KG (Schwein Nr.106 u. 113) **l a n g s a m** intravenös, sowie 75 mg/kg KG **s u b c u t a n** (Schwein Nr. 116) gegeben wurde.

Einen Gesamtüberblick über alle in dieser Arbeit verwendeten Diabetes-Versuchstiere, der applizierten Streptozotocindosis, sowie deren Todesursachen gibt die folgende Tabelle 2, Seite 23 .

SCHWEIN NR	DOSES STREPTOZ. (mg/kgKG)	INJEKTIONS ART	VERLAUF
81	40	langsam i.v.	✝ nach 8 Monaten (Infektion)
94	70	langsam i.v.	✝ nach 13 Monaten (Infektion)
106	75	langsam i.v.	✝ nach 2 Monaten (Sepsis)
113	75	langsam i.v.	✝ nach 3 Wochen (Haemat- emesis)
111	80	langsam i.v.	✝ nach 3 Wochen (MaSepsis)
101	90	langsam i.v.	✝ nach 2 Wochen (Ulcus + Infekt.)
79	30+60	langsam i.v.	geopfert nach 4 Monaten
124	30+60	langsam i.v.	lebend (15 Monate)
127	30+60	langsam i.v.	✝ nach 13 Tagen (MaSepsis)
139	30+60	schnell i.v.	lebend (9 Monate)
141	30+60	schnell i.v.	lebend (7 Monate)
96	60+70	langsam i.v.	geopfert nach 18 Monaten
144	75	i. p.	✝ nach 14 Tagen
146	60+45,6	i.p.+i.v.	lebend (6 Monate)
116	75	s. c.	geopfert nach 6,5 Monaten

 = Zweitdosis 8 Tage nach Erstdosis
 = Zweitdosis 2 Monate nach Erstdosis

Tabelle 2 :

Gesamtübersicht über die verwendeten Diabetes - Versuchstiere. Dargestellt sind injizierte Streptozotizin - Dosis , Applikationsart sowie die jeweiligen Todesursachen.

b.) i.p. - Injektion

Die Tiere wurden über 18 Stunden nüchtern gehalten; bei der Streptozotizin-Applikation waren sie nicht narkotisiert, wohl aber sediert (3,5 ml Stresnil^R i.m.). Nach Hochziehen der Hinterläufe ging man mit Hilfe einer langen Kanüle etwa 15cm suprapubisch in die freie Bauchhöhle ein. Die Dosierung be -

trug bei Schwein Nr.144 75 mg/kg KG Streptozotozin , bei Schwein Nr.146 60 mg/kg KG.
38 Tage danach wurden bei Schwein Nr.146 weitere 45,6 mg /kg KG Streptozotozin i n t r a v e n ö s verabreicht. Diese Dosierung ergab sich daraus, daß alle noch verfügbaren Streptozotozinreste Verwendung fanden (36,8 % der Gesamtmenge wurde frisch gelöst, 23,7 % war 2 Monate,39,5 % 3 Monate alt).

Die Futtermenge wurde bei allen Tieren, auch nach Ausbildung eines Diabetes mellitus, nicht reduziert.

4.) Versuchsablauf

a.) Diabetes - Tiere

Außer bei den Schweinen Nr. 144 und 146 (i.p.-Streptozotozin) wurde jeweils nach einem ähnlichen Schema vorgegangen . Zunächst implantierte man einen Venenkatheter, 2 - 3 Tage später wurde eine i.v.-Glucosebelastung mit anschließender Streptozotozin - Injektion durchgeführt (30 mg/kg bzw. 60 mg/kg bei Schwein Nr. 96).

Nach 8 Tagen folgten eine 2. Glucosebelastung und eine weitere Streptozotozin - Injektion (60 mg/kg). Letztere wurde bei Schwein Nr. 96 zwei Monate nach Erstinjektion vorgenommen, in einer Dosierung von 70 mg/kg KG.

In den darauffolgenden Wochen und Monaten bestand die Versuchsdurchführung aus abermaligen Katheterimplantationen, Glucosebelastungen und Gefäßentnahmen (s.Abbildung 2, S.25). Bei Schwein Nr. 124 führten wir zusätzlich einen Euglucon - Test, eine Augenspiegelung ³⁾ und die Bestimmung eines Cortisol -

3) Wir danken Herrn Dr. Demberg aus der Universitäts-Augenklinik, München, für die freundliche Unterstützung .

Tagesprofils durch. Der Augenhintergrund wurde ebenso bei Schwein Nr. 96 untersucht.

Ergänzend ließen wir bei einigen Tieren, vor und nach Diabetes-induktion, Hormonbestimmungen durchführen (STH , Glucagon).

Schwein Nr.	2-3 Tage		8 Tage		Monate nach 2.Strept.-Inj.						
					2	4	6	8	10	12	
124	•	XD	XD	X	•	*X	■	▲	•	*X	•
127	•	XD	XD								
139	•	XD	XD		•	*X	•	■			
141	•	XD	XD		•	*X					
	2-3 Tage		8 Tage		Monate nach 1.Strept.-Inj.						
					2	4	6	8		17	
96	•	XD	X		XD	X		•	X	•	*X

Zeichenerklärung:

- Venenkatheter
- X Glucosebelastung
- D Streptozotocin-Injektion
- * Arterienentnahme
- Euglucon-Test
- ▲ Cortisol-Tagesprofil
- ▼ Augenfundus-Untersuchung

Abbildung 2 :

Versuchsablauf bei Tieren, denen Streptozotocin intravenös appliziert wurde.

Das Vorgehen bei intraperitoneal verabreichtem Streptozotocin bei den Schweinen Nr. 144 und 146 wurde bereits unter 3.b. , Seite 23, erwähnt. Zur Verlaufskontrolle führten wir bei Nr. 146 drei i.v.-Glucosebelastungen durch.

b.) Hypothyreose - Tiere

Nach Implantation von Venenkathetern wurden die Tiere (Nr. 122 und 138) thyroidektomiert. Es folgten Gefäßentnahmen und mehrmalige Blutuntersuchungen, wobei auf die Bestimmung von Cholesterin, Triglyzeriden und T_4 besonderer Wert gelegt wurde.

5.) Diagnostik , Bestimmungsmethoden

Blut wurde aus chronisch implantierten Venenkathetern abgezogen. Nach Verwerfen der ersten 10 ml wurden die folgenden Proben jeweils mit einer konstanten Menge Heparin (etwa 125 E Liquemin^R auf 5 ml) vermischt.

Zur Durchführung der Routinediagnostik erfolgte bei allen Tieren die Bestimmung nachstehender Parameter: Bilirubin gesamt, Harnstoff-N., Kreatinin, Natrium, Kalium, Calcium, GOT, GPT, alk.Phosphatase, Blutzucker, Cholesterin, Triglyzeride, Hb, Hb_E, Erythrozyten, Leukozyten, sowie zusätzlich bei den Diabetestieren α -Amylase, Gesamteiweiß und Albumin. Die entsprechenden Werte wurden über den Autoanalyser⁴⁾ des Kliniklabors nach den Vorschriften der Firma ermittelt. Die Durchführung des T_4 -Testes (CPB - A, Kompetitive Eiweißbindungs Analyse) erfolgte in den Laboratorien für Klinische Chemie und Endokrinologie der II. Medizinischen Klinik der Universität München. Cortisol und STH wurden durch die Firma Bioscienta GmbH, Mainz, bestimmt, Glucagon durch Herrn Dr. I. Böttger, Institut für Diabetes-Forschung, München.

Intravenöse Glucosebelastungen erfolgten am nüchternen Versuchstier. Hierzu wurde eine 33 %ige, sterile Glucoselösung in einer Dosierung von 0,33 g/kg

- - - - -

4) Sma^R Plus , Technicon Instruments , Tarrytown , USA

KG über einen Venenkatheter appliziert. Blutentnahmen erfolgten alle 10 Minuten, nüchtern und bis 60 Minuten nach Belastungsbeginn.

In gleicher Weise wurde bei der Durchführung von Euglucon-Tests vorgegangen. Als Wirksubstanz diente 1 mg HB 419 pro inj. als Tris-Salz der Firma Boehringer GmbH, Mannheim.

Die Glucose - Bestimmung aus enteweißtem Plasma erfolgte enzymatisch nach der Glucoseoxidase/Peroxidase Methode, mit Hilfe der Biochemica-Test-Kombination der Firma Boehringer GmbH, Mannheim.

Insulin bestimmten wir nach der von Hales und Randle (1963) beschriebenen Doppelantikörper-RIA-Technik (36). Eine Gesamtübersicht über diese Methode wurde von A.R. Midgley et al. (1969) veröffentlicht (70). Der von uns benutzte Insulin- (^{125}J) - Radioimmunoassay - Kit stammte aus dem Radiochemical Centre, Amersham, England. Die ersten Insulinbestimmungen führten wir genau nach Vorschrift des Herstellers durch: Der Insulin/Insulinantikörper - Komplex wurde abfiltriert und die beta-Radioaktivität mit Hilfe eines Flüssigkeitsszintillationszählers ermittelt. Aus einer gleichzeitig angefertigten Insulin - Standardkurve konnte anschließend die aktuelle Insulinkonzentration abgelesen werden. Für jede Probe wurde ein Triplikat erstellt.

Im Verlauf unserer Versuche wurde der Testansatz vom Hersteller insofern modifiziert, als die Trennung des Insulin/Anti-insulin - Komplexes nicht mehr durch Filtration, sondern durch Zentrifugation, die Messung der Radioaktivität nicht mit Hilfe eines Flüssigkeitszählers, sondern mit Hilfe eines Trocken - Gamma - Szintillationszählers durchgeführt werden sollte. Da bei beiden Versuchsansätzen das zu bestimmende radioaktive Isotop das gleiche war (^{125}J), uns jedoch ein Gamma-counter nicht zur Verfügung stand, führten wir die Aktivitäts-

messung wie zu Anfang im Fließfähigkeitszähler, unter Hinzugabe von jeweils 5 ml Szintillationsfließfähigkeit, durch.

Die Zuverlässigkeit der Abänderung wurde dadurch überprüft, daß die ermittelten Insulinwerte von Kontrollplasmen bei beiden Methoden eine gute Übereinstimmung aufwiesen. Daneben konnte eine geringere Streuung der Triplikatwerte um den Mittelwert gefunden werden.

Bei allen Versuchstieren führten wir die Bestimmung der Viskosität in Blut und Plasma durch. Zur Messung diente ein Brookfield-Wells Mikroviskosimeter in einer Modifikation nach Schmid - Schönstein, dessen Geschwindigkeit auf 60 Umdrehungen pro Minute eingestellt war. Die Scherrate (18 sec^{-1}) entspricht etwa dem präkapillären Arteriensystem (101).

Der Hämatokrit wurde mit Hilfe von Mikroliterpipetten bestimmt. Beim Plättchenaggregationstest (PAI) nach Svedin (10) unterschieden wir, in erster Linie nach dem Grad der Thrombozytenaggregation, 4 Stufen (Stufe I - IV). Literatur bei (63). Signifikanzberechnungen erfolgten mit Hilfe des t-Tests nach Student.

6.) Rasterelektronenmikroskopie, Histologie

Die Technik der Gefäßentnahme ist bereits unter 2.c. (Seite 19) beschrieben. Im weiteren Verlauf wurden die Gefäßsegmente wie folgt fixiert und entwässert:

30 Minuten in auf pH 7,2 gepufferter Glutaraldehydlösung bei 4°C , dann zweimal je 30 Minuten in 30 % ige-m Alkohol, anschließend 10 bis 12 Stunden in 70 % ige-m Alkohol, dann 30 min in 90 % ige-m und zuletzt weitere 30 min in absolutem Alkohol.

Die für die histologische Untersuchung bestimmten Präparate

wurden daraufhin mit Hilfe eines Gefriermikrotoms geschnitten und entsprechend den allgemeinen Vorschriften auf Objektträger gezogen und mit Sudan-Schwarz, Scharlach-Rot, Giemsa oder Hämatoxylin-Eosin (HE) angefärbt.

Im Gegensatz dazu wurden die rasterelektronenmikroskopisch zu untersuchenden Objekte zunächst unter schwachem Vakuum getrocknet, um einen möglichst schonenden Übergang in das für die Bedampfung und Beurteilung notwendige Hochvakuum zu gewährleisten. Danach konnte das fixierte Präparat von der Korkplatte auf einen Spezialobjektträger übertragen, mit einer Gold- bzw. Kohle-Goldschicht bedampft und in das Rasterelektronenmikroskop (Typ Stereoscan Mark II) eingebracht werden.

D.) E r g e b n i s s e

I.) D i a b e t e s - T i e r e

1.) Verlauf

Von den insgesamt sieben mit Streptozotocin behandelten Tieren starben zwei vorzeitig. Dies geschah bei Schwein Nr.127 fünf Tage nach der 2. Streptozotocininjektion (60 mg/kg KG i.v.), bzw. 13 Tage nach Erstinjektion (30 mg/kg KG i.v.). Eine Sektion wurde nicht durchgeführt.

Schwein Nr.144 kam 14 Tage nach der intraperitoneal verabreichten Streptozotocin-Dosis von 75 mg/kg KG ad exitum. Dem Tod ging ein mehrtägiges Koma voraus. Postmortal wurde Blut entnommen; die Untersuchung ergab einen Gesamtbilirubin-Spiegel von 6,2 mg/100 ml, die Blutzuckerkonzentration betrug 580 mg/100 ml. Eine Glucosebelastung war zuvor nicht durchgeführt worden.

Kurz nach Injektion von 60 mg/kg KG Streptozotocin und mehr kam es bei allen Tieren zum Erbrechen. Nach einer Dosis von 30 mg/kg konnte dies nicht beobachtet werden.

Die Gewichtsentwicklung war bei allen Tieren normal, eine Veränderung der Nahrungs- und Wasseraufnahme konnte nicht festgestellt werden.

2. Routinediagnostik

Von 19 regelmäßig zur Überwachung des Gesundheitszustandes der Tiere kontrollierten humoralen Werten zeigten 12 über einen Beobachtungszeitraum von bis zu 8 Monaten keinerlei Veränderungen. Neben den erhöhten Blutzuckerwerten, auf welche unter 4. (Seite 33 ff.) eingegangen wird, lag die α -Amylase deutlich über den Ausgangswerten, doch streuten die Werte

stark. Bilirubin zeigte einen geringen, aber hoch signifikanten Anstieg von 0,14 auf 0,27 mg/100 ml ($p < 0,005$). Die Triglyzeride lagen 2-6 Monate nach Diabetesinduktion um 172% (bei 133,8 mg/100 ml; $p < 0,01$, $n = 8$), Cholesterin um 25 % (bei 111,1 mg/100 ml; $p < 0,05$, $n = 8$) über den Normalwerten. Die Vollblutviskosität war bei diabetischen Tieren um 3,6 %, die Plasmapviskosität um 11,4 % gegenüber den Ausgangswerten erhöht. Der Plättchenaggregationstest ergab im Mittel keine signifikanten Veränderungen, war aber bei diabetischen Tieren wiederholt deutlich pathologisch. Gesamteiweiß lag nach Diabetesinduktion um 2,03 % ($n=10$) über den Normwerten, Albumin war um 8,7 % (auf $2,85 \pm 0,28$ g/100 ml; $p < 0,025$) erniedrigt (Tabelle 3).

Bilirubin	+	93,00 % ($p < 0,005$)
Triglyzeride	+	172,00 % ($p < 0,010$)
Cholesterin	+	25,00 % ($p < 0,050$)
Blutviskosität	+	3,60 %
Plasmapviskosität	+	11,40 %
Gesamteiweiß	+	2,03 %
Albumin	-	8,70 % ($p < 0,025$)

Tabelle 3 :

Humorale Veränderungen bei streptozotizin-diabetischen Hanford - Schweinen.

3.) Hormonbestimmungen

Von insgesamt vier Tieren ließen wir STH und Gesamt-Glucagon bestimmen. Die Werte zeigten vor und nach Diabetes-Induktion keinerlei Abweichungen vom Normalbereich. Ein 2,5 Monate nach Streptozotozininjektion durchgeführtes Cortisol-Tagesprofil wies ebenfalls normale zirkadiane Schwankungen auf (Abbildung 3, Seite 32).

STH (ng/ml)	
normal	diabetisch
< 0,3 (141)	0,3 (139)
< 0,3 (143)	< 0,3 (124)

Glucagon , gesamt (pg/ml)			
normal		diabetisch	
x	$\bar{x}$	x	$\bar{x}$
41 (141)	32	63 (139)	35
23 (143)		14 (124)	
		28 (141)	

Cortisol (μ g/100 ml) Tagesprofil, Schwein 124			
8 ⁰⁰ Uhr	12 ⁰⁰ Uhr	18 ⁴⁵ Uhr	24 ⁰⁰ Uhr
6,3	4,8	1,8	5,2
Normalbereich: 5 - 20			

Abbildung 3 :

STH-, Glucagon- und Cortisolwerte vor und nach Streptozotocin. Tier - Nr. in Klammern .

4.) Glucosebelastungen , Euglucontests

Die Diagramme der im folgenden beschriebenen und abgebildeten Glucosebelastungen bzw. Euglucontests stellen Mittelwertkurven dar, die nach der Formel

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i (\text{nüchtern}) \dots \sum_{i=1}^n x_i (60 \text{ min})$$

berechnet wurden. Der Normalbereich nicht diabetischer Tiere ergab sich durch Addition bzw. Subtraktion der einfachen Standardabweichung (s) zu den entsprechenden Mittelwerten ($\bar{x}$):

$$\text{Normalbereich} = \bar{x} \pm s$$

a.) v o r Streptozotocininjektion

Die bei 11 Normaltieren durchgeführten Glucosebelastungen wiesen einen charakteristischen Verlauf auf (Abb.4, Seite 34). Nach einem initialen Anstieg von $72 \pm 9,2 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ Blut - zucker (Nüchternwert) auf ein Maximum von $162 \pm 25,3 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ (10-Min.-Wert) erreichte die Glucosekonzentration 30 min nach Belastungsbeginn wieder den Ausgangsbereich.

Als Antwort auf den Glucosereiz zeigte Insulin ebenfalls einen initialen Anstieg von nüchtern $27 \pm 18,2 \mu\text{U}/\text{ml}$ auf ein 10-Minuten-Maximum von $118 \pm 19,7 \mu\text{U}/\text{ml}$. Der folgenden Insulinabfall erreichte zusammen mit den Blutzuckerwerten den Ausgangsbereich 30 Minuten nach Belastungsbeginn.

Bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes (60 Minuten) konnten keine weiteren Veränderungen der Blutzucker- bzw. Insulinwerte festgestellt werden.

Der Glucoseassimilationskoeffizient k wurde nach der Formel

$$k = \frac{\ln (\text{Glucose } 10 \text{ min}) - \ln (\text{Glucose } 40 \text{ min})}{30} \times 100$$

berechnet. k - Werte unter 1,0 gelten in der Literatur als

diabetisch (22). Bei unseren Normaltieren errechnete er sich zu:

$$k_{\text{Normaltier}} = 4,1 \pm 1,5 \quad (\bar{x}_{n=11} \pm s)$$

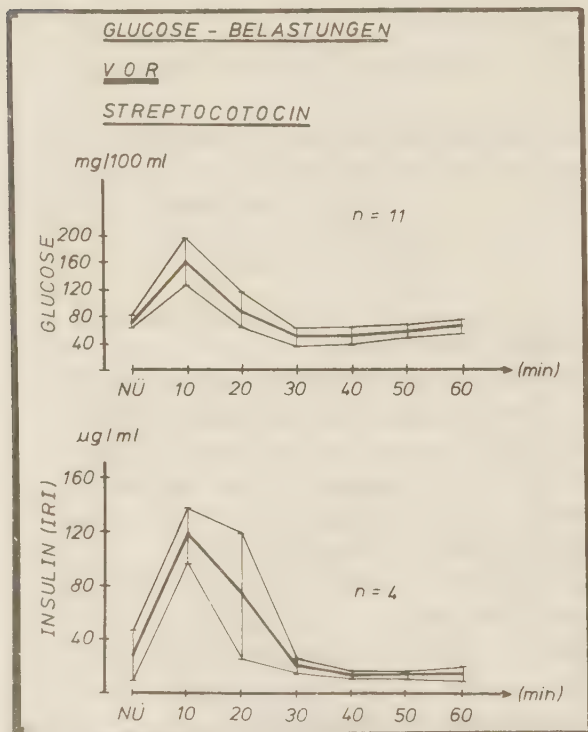


Abbildung 4 :

Mittelwerte von Blutglucose und Plasmainsulin nach intravenöser Glucosebelastung (0,33 g/kg) bei gesunden Minischweinen (k - Wert = 4,1). Die Mittelwertkurve wird vom Normalbereich ($\bar{x} \pm s$) eingeschlossen.

Die bei 6 gesunden Tieren durchgeführten Euglucontests zeigten erwartungsgemäß einen Glucoseabfall, von nüchtern $74 \pm$

11,1 mg/100 ml auf einen 30-Minutenwert von $32 \pm 5,8$ mg/100 ml. In den folgenden 90 Minuten war ein leichter Anstieg der Blutzuckerkonzentration bis in den Nüchternbereich zu verzeichnen. Siehe Abbildung 7, Seite 39 (gestrichelte Linien).

b.) nach 30 mg/kg KG Streptozotozin, i.v.

c.) nach 30 + 60 mg/kg KG Streptozotozin, i.v.

Zur besseren Übersichtlichkeit werden diese beiden Streptozotindosen zusammengefaßt, da es sich um Versuche an jeweils gleichen Tieren handelt. Nach einer niedrigen Initial-Dosis (30 mg/kg) folgte im Abstand von 8 Tagen eine zweite Streptozotininjektion in Höhe von 60 mg/kg KG (4 Tiere).

Die eine Woche nach Erstapplikation durchgeführten Glucosebelastungen zeigten je nach Injektionsgeschwindigkeit unterschiedliche Ergebnisse :

Wurde Streptozotozin sehr langsam gegeben (2 Tiere), konnten keinerlei Veränderungen der Blutzuckerwerte und ein nur leichter Abfall der Insulinkonzentration festgestellt werden. Der charakteristische Insulinanstieg 10 min p.i. bei Normaltieren war auch hier eindeutig nachweisbar (Abbildung 5, Seite 36; die gestrichelten Linien zeigen, auch in den folgenden Abbildungen, jeweils den Normalbereich $\bar{x} \pm s$ unbehandelter Tiere an).

Wie aus der Abbildung ersichtlich, kam es hingegen nach möglichst rascher Injektion von 30 mg/kg (2 Tiere) zu einem Anstieg der Nüchtern-Glucosekonzentration auf 248 mg/100ml. Als Folge der fehlenden Insulinantwort (punktierte Linie) sank die Blutzuckerkonzentration nur sehr langsam von dem 10 - Minuten - Maximalwert (359 mg/100 ml) in den Nüchternbereich ab.

Diese Beziehung verdeutlicht der Glucoseassimilationskoeffizient k . Seine Werte lagen nach langsamer Streptozotizin-

injektion bei 4,74, nach rascher Injektion hingegen bei 0,53.

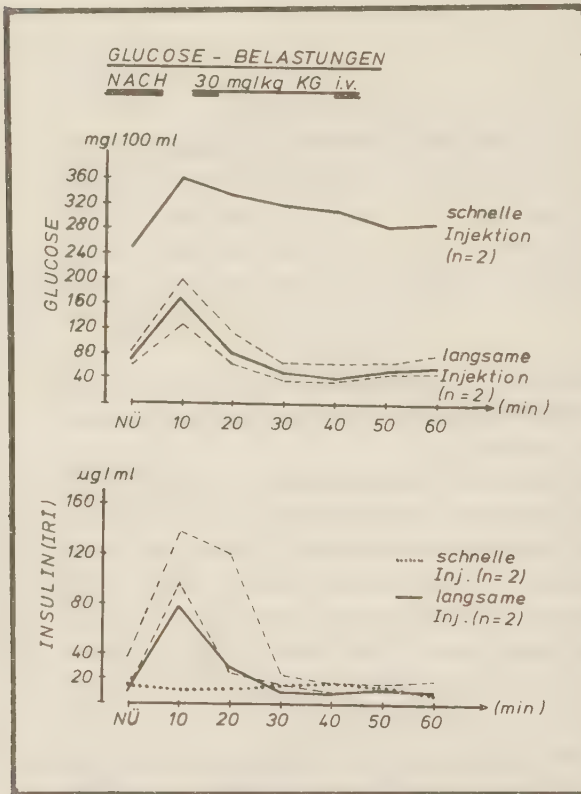


Abbildung 5 :

Mittelwerte von Blutglucose und Plasmainsulin nach intravenöser Glucosebelastung (0,33 g/kg) bei Mini-schweinen 8 Tage nach i.v.- Injektion von 30 mg Streptozotolin/kg. Im Gegensatz zur langsamen Verabfolgung (k -Wert = 4,7) induzierte die rasche Applikation deutlich diabetische Glucosewerte (k -Wert = 0,53).

- - - - - = Normalbereich ($\bar{x} \pm s$).

Abbildung 6 zeigt die Ergebnisse weiterer Glucosebelastungen, wie sie nach der jeweiligen Zweitdosis von 60 mg/kg Streptozotizin durchgeführt wurden :

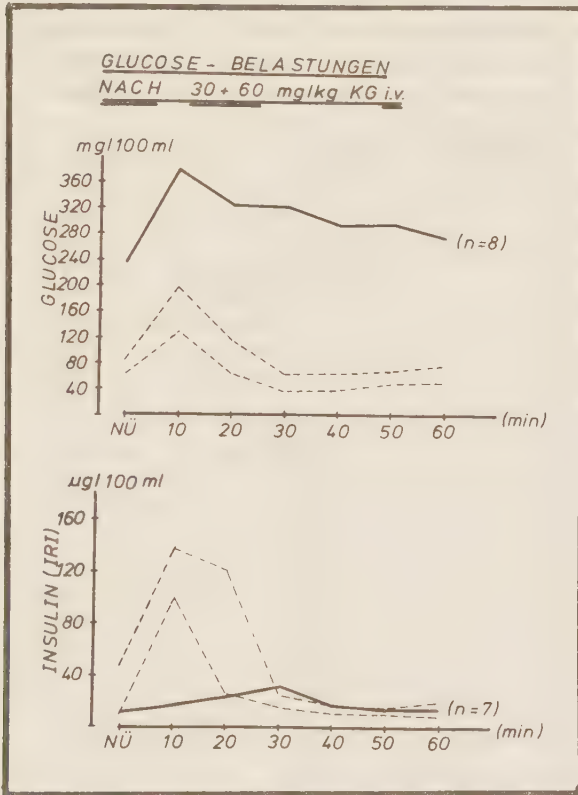


Abbildung 6 :

Mittelwerte von Blutglucose und Plasmainsulin nach intravenöser Glucosebelastung (0,33 g/kg) bei Mini-schweinen mehrere Wochen nach i.v.-Injektion von 30 + 60 mg Streptozotizin / kg (k-Wert = 0,84).

- - - - - = Normalbereich ($\bar{x} \pm s$).

Die Kurvenverläufe setzen sich aus 8 (Glucose), bzw. 7 (In-

sulin) Belastungstests an vier Tieren zusammen, die in einem Zeitraum von weniger als 1 Monat bis 7 Monaten nach Diabetes-induktion durchgeführt wurden.

Auf eine zeitlich gestaffelte Darstellung der einzelnen Belastungen wurde bewußt verzichtet, da sich ein Zusammenhang zwischen der zurückliegenden Dauer der Streptozotizin-Injektion und dem Schweregrad der diabetischen Stoffwechsellaage nicht eindeutig nachweisen ließ (Tabelle 4).

	1 Monat nach Streptoz.	2 Monate nach Streptozotizin	4-7 Monate nach Streptozotizin	$\bar{x} \pm s$
Schw. Nr.	79	124	79	141
	124	139	141	124
Nücht.	262(8)	238(10)	215(16)	229 $\pm$ 49,6
10 min	379(14)	421(12)	324(18)	376 $\pm$ 64,8
20 min	240(26)	400(25)	293(20)	323 $\pm$ 72,3
30 min	356(57)	385(26)	288(17)	325 $\pm$ 58,7
40 min	318(18)	297(20)	270(17)	292 $\pm$ 56,3
50 min	315(9)	303(12)	259(12)	295 $\pm$ 57,3
60 min	321(7)	266(16)	249(11)	274 $\pm$ 56,5

Tabelle 4 :

Glucose - und Insulinwerte während Glucosebelastungen nach einem, zwei und 4 - 7 Monaten Diabetesdauer.

Glucose : mg/100 ml
Insulin(IRI) : μ U/ml

Insulinwerte in Klammern.

Eine Beziehung zwischen Injektionsgeschwindigkeit von Streptozotozin und der Höhe des Blutzuckerspiegels - wie sie nach der Initialdosis von 30 mg/kg nachweisbar war - konnte nach der Zweitdosis ebenfalls nicht festgestellt werden. Bei allen Tieren bewegten sich die Nüchternglucosewerte zwischen 160 und 295 mg/100 ml ($\bar{x} = 229 \pm 49,6$), die basale Insulinsekretion schwankte um Werte zwischen 8 und 16 $\mu\text{U/ml}$ ($11 \pm 4,1$).
Tabelle 4, Seite 38.

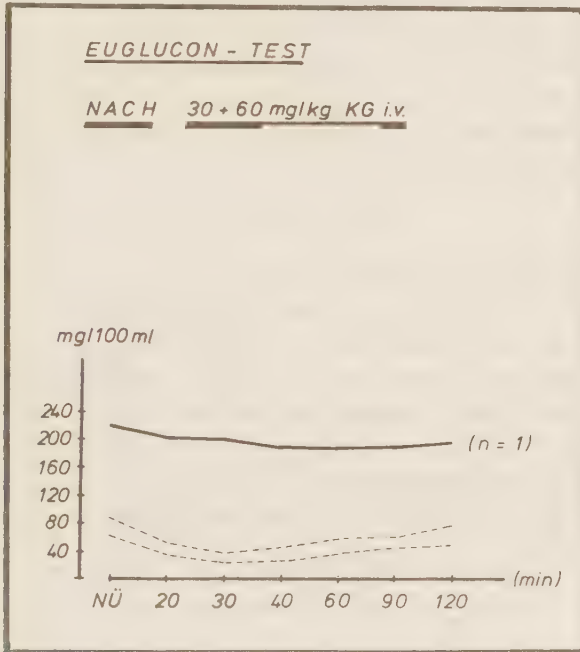


Abbildung 7 :

Verlauf der Blutglucose nach intravenösem Euglucon - Test (1 mg HB 419 pro inj.) bei einem Miniaturetschwein 3 Monate nach i.v.- Injektion von 30 + 60 mg Strep - tozotozin/kg.

----- = Normalbereich ($\bar{x} \pm s$).

Im Vergleich zu Normaltieren machte sich ein stark ver -

verzögerter Insulinanstieg bemerkbar, der 30 Minuten nach Belastungsbeginn seinen höchsten Durchschnittswert mit $29 \mu\text{U/ml}$ erreichte.

Als Ausdruck dieser mäßigen Insulinantwort gegenüber der Insulinsekretionsstarre nach 30 mg/kg Streptozotocin, rasch i.v., kann der um 0,31 Stufen - von 0,53 auf 0,84 - erhöhte k-Wert gelten.

Der bei einem Tier (Schwein Nr. 124) durchgeführte Euglucon-test, 3 Monate nach $30 + 60 \text{ mg/kg}$ Streptozotocin, spiegelte ebenfalls die hochdiabetische Stoffwechsellaage wider. Der Nüchtern-glucosewert betrug 217 mg/100 ml , es folgte ein gegenüber dem Normalverlauf verzögerter BZ - Abfall, der 60 Minuten nach Eugluconinjektion einen Wert von 186 mg/100 ml erreichte (Abbildung 7 , Seite 39).

d.) nach 40 mg/kg KG Streptozotocin , i.v.

Diese Dosis wurde bei Schwein Nr. 81 langsam innerhalb 5 Minuten i.v. gegeben. Das Ergebnis einer nach 8 Tagen durchgeführten Glucosebelastung (Abbildung 8 , Seite 41) entspricht den Befunden, wie sie nach langsamer Injektion von 30 mg/kg auftraten. Keiner der berechneten Blutzuckerwerte überschritt die 2 s - Grenzen des Normalbereichs.

Der k-Wert lag mit 3,69 ebenfalls innerhalb der normalen Schwankungsbreite.

e.) nach 60 mg/kg KG Streptozotocin , i.v.

Zwei Glucosebelastungen, 6 und 40 Tage nach langsamer Streptozotocininjektion von 60 mg/kg durchgeführt (Schwein Nr.96), zeigten einen im Mittel leicht erhöhten Blutzucker-verlauf gegenüber den nach 40 mg/kg gefundenen Werten (Abbildung 8 , Seite 41). Nach einem initialen Anstieg von nüchtern 91 mg/

100 ml auf 151 mg/100 ml, 10 Minuten p.i., war ein verzögert-er Blutzuckerabfall zu verzeichnen. In dem Zeitraum von 20 Minuten p.i. bis 40 Minuten p.i. lagen die Werte mit 112, 81 und 70 mg/100 ml geringfügig über dem Normalbereich unbehan-delter Tiere.

Diesen Befunden entspricht der schwach signifikant erniedrigte k-Wert von 2,56.

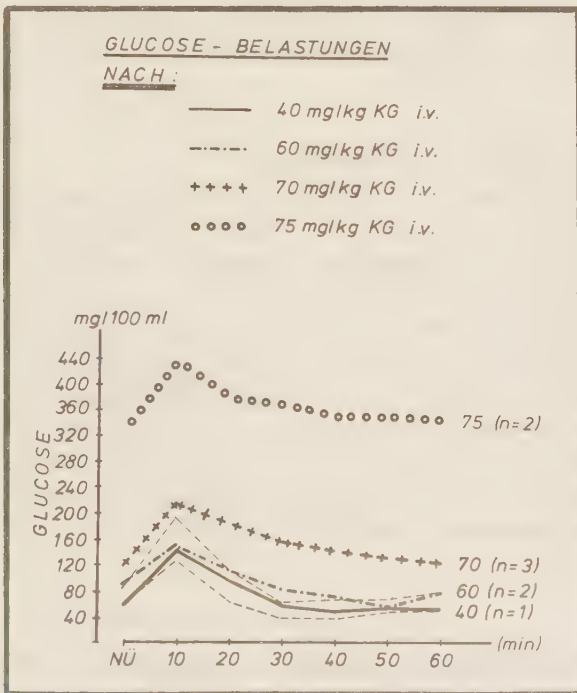


Abbildung 8 :

Mittelwerte von Blutglucose nach intravenöser Glu- cosebelastung (0,33 g/kg) bei Minischweinen, eine bis mehrere Wochen nach i.v.-Injektion von 40, 60 , 70 und 75 mg Streptozotocin/kg. Die k-Werte sind aus dem Text zu entnehmen.

Aus der Abb. ist eine von der applizierten Strepto- zotocindosis abhängige Glucosekonzentration erkenn- bar. - - - - - = Normalbereich ($\bar{x} \pm s$).

f.) nach 70 mg/kg KG Streptozotozin, i.v.

Streptozotozin wurde in dieser Dosierung ebenfalls sehr langsam i.v. verabreicht (Schwein Nr. 94). 6 Tage, 2 und 6 Monate p.i. wurden Glucosebelastungen durchgeführt. Die in der Abbildung 9 (Seite 41) dargestellten Mittelwerte zeigten einen gegenüber dem Normalbereich mäßig erhöhten Verlauf, der einem milden Diabetes entsprechen könnte.

Der k-Wert von 1,45 (normal: $4,1 \pm 1,5$) belegt diesen gegenüber e.) abermals verzögerten Glucoseabfall.

g.) nach 75 mg/kg KG Streptozotozin, i.v.

Zwei Glucosebelastungen, 2 und 4 Wochen nach langsamer Streptozotozininjektion von 75 mg/kg, i.v., durchgeführt, erbrachten einen im Mittel hochdiabetischen Blutzuckerungsverlauf (Abbildung 8, Seite 41). Der Nüchtern-glucosewert betrug 328 mg/100 ml, der 10-Minuten-Maximalwert lag bei 435 mg/100 ml. Es folgte ein anfangs relativ rascher BZ - Abfall auf 377 mg/100 ml (20 min. p.i.), der sich bis zum Ende des Beobachtungszeitraums langsam auf einen 60-Minuten-Wert von 345 mg/100 ml einstellte.

Die k-Werte lagen mit 0,68 (2 Wochen nach Streptozotozin) und 0,77 (4 Wochen nach Streptozotozin) weit unterhalb des Normalbereichs.

h.) nach 60 + 70 mg/kg KG Streptozotozin, i.v.

Bei Schwein Nr. 96 nahmen wir eine zweizeitige, langsame Injektion vor 60 und 70 mg Streptozotozin/kg im Abstand von 2 Monaten vor. Die nach der Erstdosis ermittelten Ergebnisse wurden bereits unter 4.e. beschrieben.

Wie Tabelle 5 (Seite 43) zeigt, waren die Glucosebelastungen, die wir im Abstand von 1,5, 6 und 15 Monaten nach Zweitdosis

durchführten, jeweils eindeutig diabetisch, jedoch fiel ein relativ rascher Glucoseabfall nach Erreichen des 10-Minuten-Maximums auf. Diesen Befund bestätigten ein an der unteren s - Grenze liegender k-Wert von 2,57, sowie eine ansteigende Insulinsekretionsrate, die 40 Minuten nach Belastungsbeginn ihren höchsten Wert mit 54 μ U/ml erreichte.

	1,5 Monate nach Strepto.	6 Monate nach Strepto.	15 Monate nach Strepto.	$\bar{x} \pm s$
NÜ	116	125	81	107 $\pm$ 23,2
10 min	310	360	307	326 $\pm$ 29,8
20 min	211	296	220	242 $\pm$ 46,7
30 min	154	246	157	186 $\pm$ 52,3
40 min	126	202	126	151 $\pm$ 43,9
50 min	96	168	116	127 $\pm$ 37,2
60 min	116	155	107	126 $\pm$ 25,5

Tabelle 5 :

Glucosebelastungen (0,33 g/kg i.v.) : 1,5, 6 und 15 Monate nach 60 + 70 mg/kg Streptozotozin i.v. (Schwein Nr.96). Die Die beiden Streptoz.-Dosen wurden im Abstand von 2 Monaten appliziert. Glucosewerte in mg/100 ml.

- i.) nach 60 mg/kg KG Streptozotozin , i.p.
 k.) nach 60 mg/kg i.p. + 45,6 mg/kg Streptozotozin, i.v.

Das Ergebnis einer 9 Tage nach Streptozotozinapplikation in Höhe von 60 mg/kg intraperitoneal durchgeführten Glucosebelastung zeigt die Abbildung 9 (Seite 44). Sowohl der Blutzuckerverlauf, wie auch die Insulinantwortkurve lagen innerhalb des Normalbereichs gesunder Tiere. Der k-Wert in Höhe von 3,89 wies ebenfalls auf eine unveränderte Glucoseverwertung hin.

Im Abstand von 38 Tagen wurde beim gleichen Tier (Nr. 146) eine weitere Streptozotozinapplikation in einer Dosierung von 45,6 mg/kg intravenös vorgenommen (vgl. Abschnitt C,3 b. , Seite 23/24). Zwei Glucosebelastungen, 4 Tage und 2 Monate danach durchgeführt, erbrachten keinen Hinweis auf eine erfolgreiche Diabetesinduktion (Blutzuckerkonzentrationen alle im Normalbereich, $k = 5,52$).

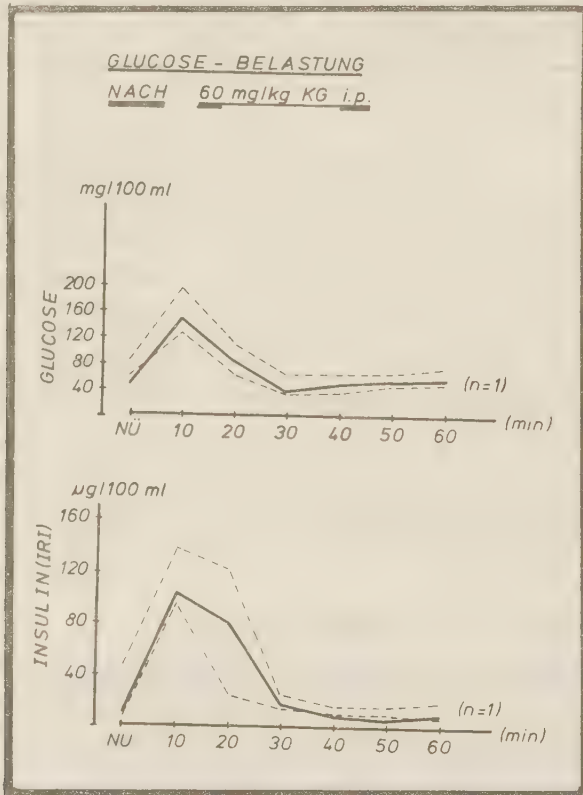


Abbildung 9 :

Verlauf von Blutglucose und Plasmainsulin nach intravenöser Glucosebelastung (0,33 g/kg) bei einem Minischwein 9 Tage nach intraperitonealer Applikation von 60 mg Streptozotocin/kg (k -Wert = 3,89).
----- = Normalbereich ($\bar{x} \pm s$).

1.) nach 75 mg/kg KG Streptozotizin, s.c.

Bei einem Tier (Nr. 116) wurde diese Dosis subkutan verabreicht. 3 Wochen und 2 Monate p.i. wurden Glucosebelastungen durchgeführt, die während des Beobachtungszeitraums jeweils leicht gegenüber dem Normalbereich erhöhte Blutzuckerwerte aufwiesen (Abbildung 10) :

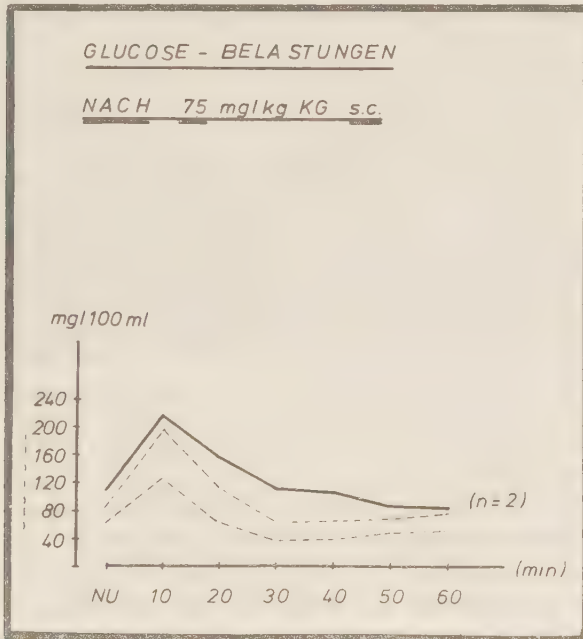


Abbildung 10 :

Mittelwerte von Blutglucose nach intravenösen Glucosebelastungen (0,33 g/kg) bei einem Miniaturschwein. Die Gluc.-Belastungen wurden 3 und 8 Wochen nach subkutaner Injektion von 75 mg Streptozotizin/ kg durchgeführt.

----- = Normalbereich ($\bar{x} \pm s$).

Ein zwei Tage post injectionem vorgenommener Euglucon-test ließ den bei gesunden Tieren beobachteten initialen Blut-

zuckerabfall von nüchtern $74 \pm 11,1$ auf $40 \pm 6,3$ (20 min) und $32 \pm 5,8$ mg/100 ml (30 min) vermissen. Die entsprechenden Werte lagen bei 62, 57 und 60 mg/100 ml.

Diesen Befunden entsprach der erniedrigte k-Wert von 2,33 (unterer Normalwert : 2,60).

5.) Rasterelektronenmikroskopische Gefäßbefunde,

Histologie,

Augenfundusuntersuchungen.

Die bei zwei Diabetes-Tieren durchgeführten Untersuchungen des Augenhintergrundes zeigten keinerlei Veränderungen im Sinne einer diabetischen Mikroangiopathie. Die histologische Untersuchung von Leber- und Nierenproben wies ebenfalls reguläres Parenchym auf. Pathologische Veränderungen im Sinne einer diabetischen Fettleber bzw. einer diabetischen Glomerulosklerose konnten nicht gefunden werden.

Die in zwei Fällen entnommenen Pankreasgewebstücke zeigten normales exokrines Parenchym, ohne daß eine Langerhans'sche Insel gefunden wurde.

Durch die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung von Arteriensegmenten gelang uns bei Tieren nach Diabetesinduktion mehrmals der Nachweis von typischen Thrombozytenadhäsionen auf dem Arterienendothel. Als Beispiel zeigt die Abbildung 11 (Seite 47) die Innenfläche einer Arteria femoralis in 10.000-facher Vergrößerung. Das Gefäß wurde 4,5 Monate nach Diabetes-Induktion entnommen. Auf der geriffelten Endotheloberfläche sind mehrere Einzelthrombozyten in visköser Metamorphose zu sehen. Die sternförmig ausstrahlenden Pseudopodien sind deutlich zu erkennen. Bei den dem Endothel anhaftenden faserigen Strukturen dürfte es sich teils um Thrombozytenpseudopodien, teils um Fibrinfäden handeln.

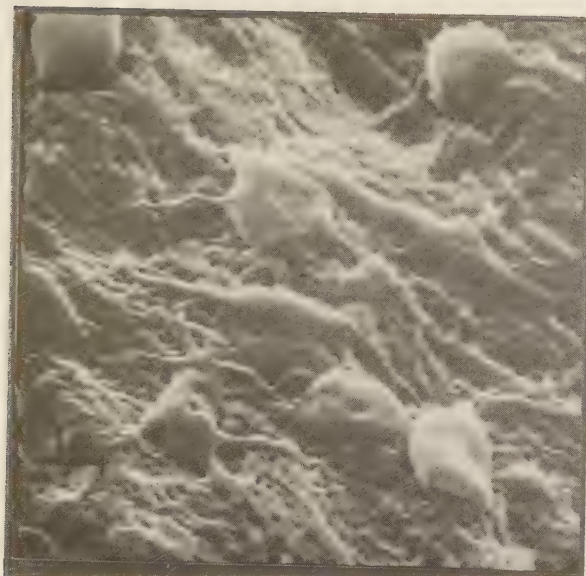


Abbildung 11 :

=====

Innenfläche einer Art. femoralis eines Miniaturschweins nach 4,5- monatiger Diabetesdauer. Thrombozyten haften mit Pseudopodien auf dem Endothel. Daneben faserige Strukturen, die miteinander vernetzte Fibrinfäden und Thrombozytenpseudopodien darstellen könnten.

Rasterelektronenmikroskopische Vergrößerung 10.000 : 1;
Arch.-Nr. 39 140.

Die lichtmikroskopische Untersuchung der entnommenen Arterien-segmente zeigte bei diabetischen Tieren auffallend gehäuft Proliferationen der Gefäßintima und zum Teil Vakuolisierungen. In Abbildung 12 (Seite 48) ist ein solcher Gefäßquerschnitt in 40- facher Objektivergrößerung (ca. 400- facher Gesamt-vergrößerung) zu sehen. Es handelt sich ebenfalls um eine A. femoralis, die nach einem Monat Diabetesdauer entnommen wurde. Die Basalmembran und die deutlich verdickte Intima sind gut

zu erkennen. Fetttropfen konnten nur bei einem Präparat nachgewiesen werden.

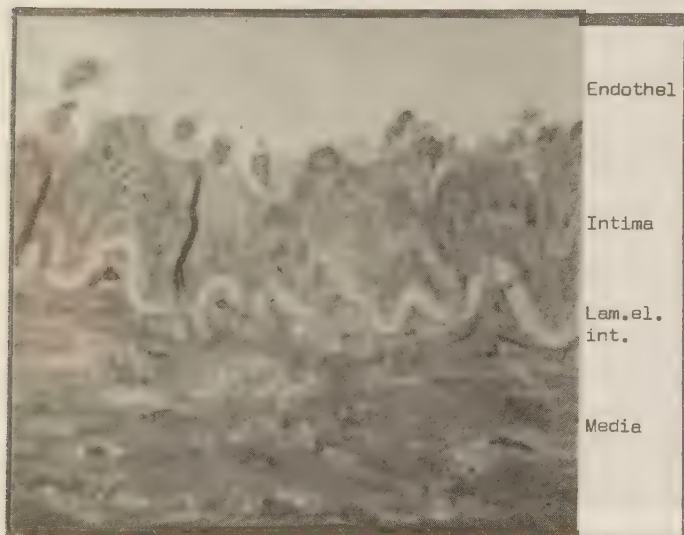


Abbildung 12 :

Querschnitt einer Art. femoralis eines Miniaturschweins nach 1 - monatiger Diabetesdauer. Deutlich hervortretende Intimaproliferation.

Lichtmikroskopische Vergrößerung 400 : 1; Färbung nach Giemsa.

II.) Hypothyreose - Tiere

1.) Verlauf

Beide thyroidektomierten Tiere zeigten einen im Hinblick auf Gewichtsentwicklung, Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme zu - nächst unauffälligen Verlauf.

Vier Monate nach Entfernung der Schilddrüse begann sich der körperliche Allgemeinzustand bei Schwein Nr. 138 zu ver - schlechtern. Das Tier war träge und verweigerte die Nahrungs - aufnahme. Es wurde daraufhin während einer Narkose mittels Luftembolie getötet. Eine Obduktion wurde nicht durchgeführt. Möglicherweise könnte ein hypo- bzw. athyreotisches Koma als Ursache für das apathische Verhalten des Tieres in Erwägung gezogen werden.

Schwein Nr. 122 wurde 8 Monate nach Thyroidektomie intra op - erationem (Entnahme der A. interventricularis cordis für rasterelektronenmikroskopische Zwecke) geopfert. Die Nahrung war - wie im Abschnitt C, 2 d (Seite 21) erwähnt - chol - esterinreich. Während des Beobachtungszeitraums konnte eine Verschlechterung des Allgemeinzustandes nicht beobachtet wer - den. Auffallend war eine ausgeprägt pastöse Hautbeschaffen - heit, sowie eine aufgedunsene Gesichtsform; Bilder, die an ein typisches Myxödem erinnerten. Diese Erscheinungen traten zirka 2 Monate nach Thyroidektomie auf.

2.) Routinediagnostik

Von den 17 über einen Beobachtungszeitraum von bis 8 Monaten nach Thyroidektomie regelmäßig kontrollierten humoralen Wert - en zeigten 12 keine Veränderungen.

Bei Schwein Nr. 122, dem eine cholesterinreiche Nahrung ver - füttert wurde, stiegen die Triglyzeride um 67 % (auf 85,7 mg/ 100 ml; $p < 0,01$, $n = 6$), das Plasmacholesterin um 27,5% (auf 131,8 mg/100 ml; $p < 0,005$, $n = 6$) gegenüber unseren Normal-

werten an. Entsprechende Veränderungen waren bei dem normal-
gefütterten Schwein 138 nicht zu erkennen. Lediglich die Tri-
glyzeride ergaben nach Hypothyreoseinduktion im Mittel einen
leichten Anstieg von $51,2 \pm 10,7$ auf $56,7 \pm 13,0$ mg/100 ml.
Die Vollblutviskosität war nach Thyroidektomie im Durch-
schnitt um 2,4 %, die Plasmapviskosität um 6,3 % gegenüber
Werten unbehandelter Tiere erhöht. Der Plättchenaggregations-
test ließ während des Beobachtungszeitraums keine signifi-
kanten Veränderungen erkennen, jedoch fielen bei beiden Tie-
ren wiederholt pathologische Werte auf.

Die erfolgreiche Induktion der Hypothyreose belegten die Er-
gebnisse der T_4 - Tests. Die Einzelwerte lagen bei Schwein
138 mit 0, 1.9, 0.7 $\mu\text{g}/100$ ml, bei Schwein 122 mit 4,2, 0,
und 1.1 $\mu\text{g}/100$ ml deutlich unterhalb des Normalbereichs, der
mit 4.5 - 10 $\mu\text{g}/100$ ml angegeben wird.

Nach Thyroidektomie war bei beiden Tieren ein leichter Ab-
fall der Erythrozyten um -8,6 %, der Leukozyten um -27,6 %
gegenüber den Ausgangswerten festzustellen.

3.) Rasterelektronenmikroskopische und histologische Gefäß- befunde

Auch die operative Thyroidektomie führte vereinzelt zu ein-
deutigen Thrombozytenadhäsionen auf dem rasterelektronen -
mikroskopisch intakt erscheinenden Arterienendothel, wie sie
bei gesunden Tieren - sorgfältige Präparation vorausgesetzt -
niemals gefunden werden konnten. Die Abbildung 13 (Seite 51)
zeigt die Innenfläche einer Arteria femoralis in einer Ver-
größerung von 5000 : 1. Zum Zeitpunkt der Untersuchung lag
die Entfernung der Schilddrüse drei Wochen zurück. Es handelte
sich um ein normalgefüttertes Tier, ohne Cholesterinzusatz .
Die anhaftenden Einzelthrombozyten sind deutlich zu erkennen.
Einzelne von ihnen sind in ihrer viskösen Metamorphose schon

fortgeschritten. Im Gegensatz zu Abbildung 11 (Seite 47) ist hier die Endotheloberfläche noch glatt, Fibrinfäden sind nicht zu erkennen.



Abbildung 13 :

=====

Innenfläche einer Art. femoralis eines normalgefütterten Miniaturschweins nach 3 Wochen zurückliegender Thyroidektomie: Adhärenz einzelner Thrombozyten in visköser Metamorphose.

Rasterelektronenmikroskopische Vergrößerung 5000 : 1;
Arch.-Nr. 28 854

Die histologische Untersuchung von Arteriensegmenten zeigte bei einem Tier eine leichte Intimaverdickung. Es handelte sich um Schwein Nr. 122, dem eine cholesterinreiche Nahrung verfüttert wurde. Bei Schwein 138 konnten derartige Veränder-

ungen nicht eindeutig festgestellt werden. Die Abbildung 14 zeigt den Querschnitt einer Arteria carotis bei Schwein 122 in 16- facher Objektivergrößerung (ca. 160- facher Gesamtvergrößerung). Das Gefäß wurde vier Monate nach Thyroidektomie entnommen. Die Intima ist höchstens minimal verdickt, eine Einlagerung von Fetttropfen ist nicht zu erkennen. Die Gefäßmedia weist reguläres Bindegewebe mit reichlich elastischen Strukturen auf.

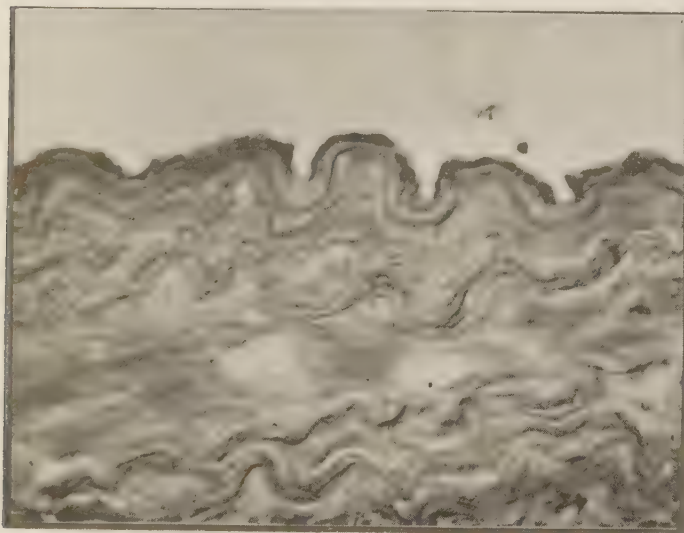


Abbildung 14 :

=====

Querschnitt einer Art. carotis eines Miniaturschweins nach 4 Monate dauernder Hypothyreose. Die Nahrung des Tieres war cholesterinangereichert. Die Gefäßintima ist höchstens gering verdickt. In der Media sind reichlich elastische Strukturen zu erkennen.

Lichtmikroskopische Vergrößerung 160 : 1; Sudan - Schwarz - Färbung.

E.) D i s k u s s i o n

1.) Streptozotocin - Diabetes

Die Wirkung verschiedener intravenös verabreichter Streptozotocin-Mengen veranschaulicht die folgende, zusammenfassende Abbildung 15 :

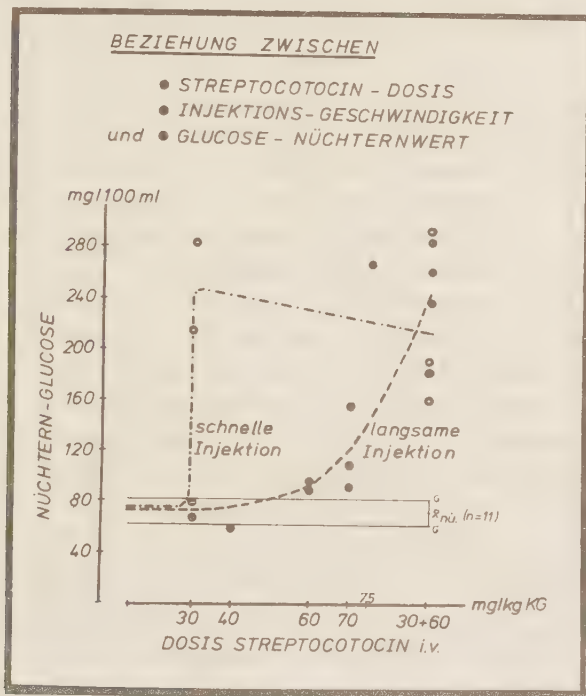


Abbildung 15 :

Verhalten von Blutglucose (Nüchternwerte) in Abhängigkeit von Dosis Streptozotocin (intravenös appliziert) und Injektionsgeschwindigkeit.

○ = schnelle , ● = langsame Injektion.

Danach kann offenbar dosisabhängig ein unterschiedlich schwerer Diabetes, einschließlich einer dem latenten Diabetes ver-

gleichbaren Stoffwechsellaage erzeugt werden. Steiner und Mitarbeiter (1970) kamen bei der Ratte zu ähnlichen Ergebnissen (93), jedoch gilt in unseren Versuchen dieser Zusammenhang nur, wenn Streptozotizin sehr langsam injiziert wird. Um eine milde diabetische Stoffwechsellaage zu erreichen, sind mindestens 60 mg Streptozotizin/kg KG notwendig.

Dagegen kommt es nach möglichst rascher Injektion von nur 30 mg/kg zu Blutzuckernüchternwerten von über 200 mg/100 ml. Möglicherweise ist die unterschiedliche Streptozotizindosis, die das Pankreas pro Zeiteinheit erreicht, hierfür verantwortlich. Bekanntlich wird bei rascher Injektion eines Pharmakons eine höhere momentane Blutzuckerkonzentration erzielt, als dies bei sehr langsamer Injektion (in unserem Fall über 5 Minuten) der Fall ist. Offenbar ist dieses "flush"-artige Anfluten von Streptozotizin mit ausschlaggebend für die Destruktion der beta-Zellen.

Bemerkenswert ist die Tatsache, daß es nach der Zweitdosis von 60 mg/kg, ebenfalls rasch injiziert, nicht zu noch höheren Blutzuckerwerten kommt. Offenbar wird der Insulin produzierende Pankreasanteil bereits nach der Erstdosis von 30 mg/kg insuffizient, wie die fehlenden Insulinantworten während Glucosebelastungen vermuten lassen.

In der Abbildung 16 (Seite 55) sind die Blutzuckerquerschnittswerte $\left(\frac{1}{7} \sum_{\text{NU}}^{60} \bar{x} \text{ Glucose} \right)$ und der jeweilige Quotient $1/k$ aufgetragen. Neben den Einflüssen der Streptozotizin - Dosis und - Injektionsgeschwindigkeit auf den diabetischen Schweregrad sind zwei weitere Dinge festzustellen:

- a.) Der k-Wert (bzw. $1/k$ -Wert) korreliert gut mit der Höhe des Blutzuckerwertes.
- b.) Bei zweizeitiger Streptozotizin-Applikation ist der zeitliche Abstand zwischen beiden Injektionen wesentlich: Betrachtet man nämlich die Ergebnisse nach 30 + 60 mg/kg und diejenigen nach 60 + 70 mg Streptozotizin/kg, so fällt auf,

daß es im zweiten Fall trotz größerer Streptozotocinmengen zu einem wesentlich niedrigeren Glucosewert, bzw. einem vergleichsweise sehr niedrigen $1/K$ -Wert kommt. Da die Zweitdosis von 70 mg/kg zwei Monate nach Erstapplikation gegeben wurde, während zwischen den Dosen von 30 + 60 mg/kg ein zeitlicher Abstand von nur 8 Tagen lag, muß eine zumindest teilweise Regeneration des Pankreas angenommen werden. Einen Hinweis darauf konnte die ansteigende Insulinsekretionsrate während einer Glucosebelastung geben.

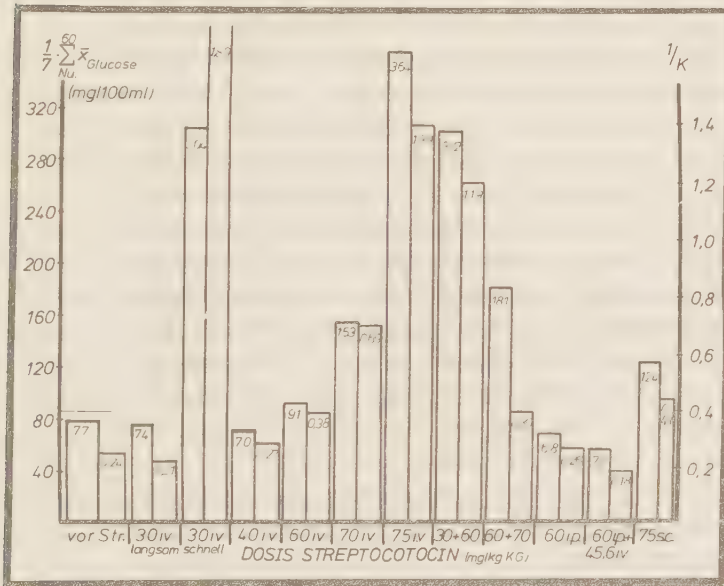


Abbildung 16 :

Mittlerer Blutglucosewert der i.v. Glucosebelastung (jeweils linke Säule) bzw. reziproker k-Wert (jeweils rechte Säule) nach verschiedenen Versuchsansätzen zur Induktion eines Streptozotocindiabetes beim Minischwein. Die Glucosebelastungen nach 30 mg Streptozotocin/kg erfolgten jeweils nach 8 Tagen; eine Besserung der Glucosetoleranz im weiteren Verlauf nach rascher Injektion von Streptozotocin ist keineswegs ausgeschlossen.

Intraperitoneal verabreichte Streptozotocindosen haben keinen eindeutig diabetogenen Effekt beim Schwein, während die subkutane Applikationsweise geeignet erscheint, einen milden Diabetes zu induzieren. Ein abschließendes Urteil ist in diesem Fall nicht möglich, da die Zahl der in diesem Zusammenhang verwendeten Versuchstiere zu klein ist.

Um einen hochgradigen Diabetes hervorzurufen, erweist sich die zweizeitige, möglichst rasche Injektion von 30 + 60 mg Streptozotocin/kg KG im Abstand von 8 Tagen am nüchternen Versuchstier als günstigstes Verfahren. Bei diesem Vorgehen war in unseren Versuchen immer ein ausgeprägter Insulinmangel mit Insulinsekretionsstarre zu erreichen.

Schließt man die Ergebnisse aus früheren Versuchen mit ein, so beträgt die Verlustrate 1 aus 5 Tieren. Haupttodesursachen sind Infektionen, die auf penetrierende Keime über chronisch implantierte Venenkatheter zurückzuführen sind. Allerdings sind auch systemische toxische Wirkungen des Streptozotocin nicht mit Sicherheit auszuschließen. So könnte der bei unseren Tieren gefundene signifikante Anstieg des Serumbilirubins auf einer diabetesbedingten Leberverfettung beruhen, wie sie Marshall (1975) bei einem Tier nach 20-monatiger Diabetesdauer histologisch feststellen konnte (67).

Der weitere Verlauf des Streptozotocindiabetes bereitet keinerlei Schwierigkeiten. Trotz ausgeprägter Hyperglykämie und Insulinsekretionsstarre ist beim Schwein, auch ohne Therapie, keine Neigung zur Ketoazidose festzustellen. Somit ist die Langzeitbehandlung der Tiere komplikationslos. Bei freier Futtermenge zeigen die Tiere eine normale Gewichtsentwicklung.

Neben dem Vorteil, daß exogenes Insulin als Ursache einer immunologischen Angiopathieauslösung vermieden werden kann, erscheint wichtig, daß Hormone, die eine Beziehung zum Diabetes

haben sollen - wie STH, Glucagon, Cortisol - und denen teilweise eine Verantwortung für das Zustandekommen diabetischer Komplikationen nachgesagt wird (31, 58, 71, 59), offenbar im Normalbereich liegen. Außerdem handelt es sich bei unseren Versuchen um keinen genetisch bedingten Diabetes, sodaß die Zahl der möglicherweise angiopathieauslösenden Faktoren eingengt ist.

Auf der anderen Seite kommt es zu einer Erhöhung der Triglyzeride und des Cholesterins. Einzeluntersuchungen mit A. Wleczorek (Medizin. Poliklinik der Universität München) ergaben Hinweise, daß Cholesterin mehr zu den VLDL und LDL verschoben sein könnte. Offenbar ist die bei unseren streptozotozindiatetischen Tieren gefundene Hyperlipoproteinämie dem Typ IV nach Fredrickson zuzuordnen, wie sie auch beim menschlichen Diabetes gehäuft angetroffen wird (24, 87, 40, 94, 84).

Der leichte Anstieg der Blut- und Plasmaviskosität ließe sich mit der Erhöhung der Blutfette und des Gesamteiweißes erklären. Der fehlende Nachweis einer diabetischen Retinopathie innerhalb der bisherigen Beobachtungszeiträume entspricht den Befunden aus der Literatur, wonach entsprechende Veränderungen erst nach 2 - 3 Jahren Diabetesdauer zu erwarten sind (71, 8, 11, 100).

Kennzeichnend für den Streptozotozindiatetes beim Miniaturschwein ist der auffallend häufige und reproduzierbare Nachweis von Thrombozytenadhäsionen in visköser Metamorphose auf dem Endothel der untersuchten Arteriensegmente. Letztere konnten in früheren Versuchen unseres Arbeitskreises besonders stark ausgeprägt bei cholesterinreich gefütterten Minischweinen bereits nach wenigen Tagen gefunden werden. Weitere Reize (Zigarettenrauchen, CO₂-Exposition, Eisreiz), die modellhaft für Risikofaktoren obliterierender Angiopathien des Menschen standen, führten zu gleichartigen Plättchenadhäsi-

onen am rasterelektronenmikroskopisch intakt erscheinenden Arterienendothel (38, 42, 62). Im Falle einer prolongierten Cholesterinfütterung waren nach zwei Wochen Einlagerungen von Erythrozyten und Fibrinfäden in die bestehenden Thrombozytenaggragate, also gemischte Mikroparietalthromben, zu beobachten.

Andererseits waren bei sorgfältig präparierten Arterien gesunder Tiere Thrombozytenadhäsionen niemals nachzuweisen, bzw. konnte gezeigt werden, daß nach Beendigung des pathologischen Reizes diese frühen Veränderungen vollständig rückbildungsfähig waren.

Auf die besondere Bedeutung der Thrombozyten bei der Entstehung obliterierender Angiopathien wiesen als erste Mustard und Murphy (1962) hin (75). Aber erst durch den Einsatz des Rasterelektronenmikroskops war es möglich, Einzelthrombozyten, die auf dem Arterienendothel adhärent geworden sind, sichtbar zu machen. Wie in der Einleitung dieser Arbeit bereits erwähnt, kommt es im weiteren Verlauf der Plättchenadhäsion zu einer aktiven Entspeicherung der Thrombozytenorganellen ("release reaction"), wobei Faktoren freigesetzt werden, die die Endothelpermeabilität erhöhen (76, 78) und zu einer Proliferation glatter Muskelzellen führen (86, 62). Die signifikante Erniedrigung des Plasmaalbumins könnte auf dieser thrombozytenvermittelten Störung der Barrierefunktion des Arterienendothels beruhen. Andererseits könnte hierfür aber auch eine diabetische Nephropathie verantwortlich gemacht werden.

Unser Arbeitskreis sieht in der gestörten Interaktion zwischen adhäsionsbereiten Thrombozyten einerseits und den dadurch verursachten Endothelveränderungen bis hin zur Induktion einer Proliferation von Mediamuskelzellen andererseits einen Schlüssel zum Verständnis aller obliterierenden Angiopathien. Die Besonderheit diabetischer Gefäßerkrankungen ließe sich dabei auf die diabetestypischen metabolischen Störungen zurückführen.

Als Nachteil des Streptozotizin - Diabetes als Angiopathiemodell müssen die hohen Kosten angesehen werden: die Diabetesinduktion mit zweizeitiger Injektion von 30 und 60 mg Streptozotizin/kg Körpergewicht liegt bei einem 40 kg schweren Schwein bei Zugrundelegung einer Verlustrate von 20 - 40 % (filtrationsbedingter Verlust von Streptozotizin + Tierverlust) bei rund 1000 - 1500 DM. Weiterhin gilt die spontane Atheroskleroseneigung des Schweins als Nachteil, da bei den unter üblichen Bedingungen nur kleinen Versuchsgruppen Spontanverlauf von induzierten Veränderungen nur schwer abzugrenzen sind. Für die diabetesspezifische Mikroangiopathie dürfte dies aber ohne Belang sein. Außerdem können, wie erwähnt, systemisch - toxische Auswirkungen des Streptozotizin nicht sicher ausgeschlossen werden.

Aufgrund dieser Einschränkungen müssen die von uns erhobenen angiologischen Befunde noch als vorläufig betrachtet werden. Es sollte das Ziel weiterer Untersuchungen sein, diesen Fragen nachzugehen. Weiterhin wäre interessant, festzustellen, ob es beim streptozotizindiabetischen Tier zu gleichartigen Basalmembranverdickungen kommt, wie sie Siperstein (1976) in den Muskelkapillaren von 98 % der menschlichen Diabetiker festgestellt hat (92).

Wenn auch unsere Untersuchungen noch am Anfang stehen, so sprechen die bisherigen Befunde doch dafür, daß es sich beim Streptozotizindiabetes des Miniaturschweins um ein gutes Modell zum Studium der diabetischen Angiopathien handeln könnte.

2. Hypothyreose

Seit den Ergebnissen der Framingham-Studie wird in der Rangordnung der Risikofaktoren für ischämische Herzerkrankungen

einem erhöhten Serumcholesterinspiegel die erste Stelle eingeräumt (33, 44, 45). Für die Gefahr, an einer peripheren Arteriopathie (Claudicatio intermittens) zu erkranken, nimmt die Hypercholesterinämie nach dem inhalierenden Zigarettenrauchen und dem Diabetes mellitus den dritten Rang ein (9).

Die Bedeutung dieser Befunde läßt es gerechtfertigt erscheinen, nach einem Tiermodell zu suchen, welches den Risikofaktor Hypercholesterinämie und die frühen Stadien der Angiopathieentwicklung zu untersuchen erlaubt.

In bisherigen Studien wurde verschiedenen Tierspezies Cholesterin exogen zugeführt. Dies führte beim Kaninchen (28) und Miniaturschwein (38) schon nach wenigen Tagen zu Thrombozytenadhäsionen, die an der Wand der Bauchorta und der Aa. carotides mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops gefunden wurden. Andere Autoren fanden nach Cholesterinfütterung beim Schwein frühzeitig erhöhte mitotische Aktivitäten von glatten Gefäßmuskulzellen und Gefäßendothelzellen (52, 21).

In dieser Arbeit wollten wir nun die Möglichkeit prüfen, ob es gelingt, beim Miniaturschwein durch operative Thyroidektomie eine endogene Hypercholesterinämie zu induzieren. Aufgrund der sehr niedrigen Anzahl von Versuchstieren müssen die von uns erhobenen Befunde als Einzelbeispiele betrachtet und als solche bewertet werden. Dies vorausgesetzt, hat es den Anschein, daß das vorliegende Modell - im Gegensatz zum Streptozotocindibabetes - für die Erforschung obliterierender Angiopathien wenig geeignet ist. Dies gilt zumindest dann, wenn auf eine zusätzliche Verfütterung exogenen Cholesterins verzichtet wird. Zwar konnte die erfolgreiche Hypothyreoseinduktion bei beiden untersuchten Tieren nachgewiesen werden, doch blieb der erwartete Cholesterinanstieg aus. Möglicherweise ist das Ungleichgewicht zwischen verminderter Cholesterinsynthese und - in stärkerem Ausmaße - vermindertem

Cholesterinabbau in der Leber, welches beim hypothyreoten Menschen schließlich zu einem Anstieg des Serumcholesterins führt, beim Schwein nicht oder zumindest weniger stark ausgeprägt.

Es hat den Anschein, daß eine nennenswerte endogene Hypercholesterinämie allein durch Thyroidektomie nicht zu erreichen ist; es ist offenbar zusätzlich erforderlich, Cholesterin exogen hinzuzufüttern. Somit wäre die operative Entfernung der Schilddrüse beim Versuchstier Schwein ein Eingriff, der den erwarteten Einfluß auf den Cholesterinstoffwechsel nicht erfüllt, der vielmehr eine Beeinträchtigung des körperlichen Zustandes bis hin zum Myxödem-Koma mit sich bringen kann (Schwein 138).

Der leichte Anstieg der Blut- und Plasmaviskosität dürfte auf die Erhöhung der Blutfette zurückzuführen sein. Der Abfall der Erythrozyten und Leukozyten entspricht den Befunden aus der Literatur, wonach es bei Thyroxinmangel -wahrscheinlich aufgrund verminderten Knochenmarkstoffwechsels und verringerter Vitamin B₁₂-Resorption aus dem Darm- zu einer leichten Anämie kommt.

Die bei unseren thyroidektomierten Tieren gefundenen frühzeitigen Thrombozytenadhäsionen, sowie die Tatsache, daß diese in ihrer Morphologie denen nach Diabetesinduktion ähneln, bestätigt die Vermutung, daß humorale Veränderungen (Cholesterin- bzw. Triglyzeridanstieg, evtl. Änderung der Lipoproteinfraktionen, Erhöhung der Blut- und Plasmaviskosität), wie wir sie in unterschiedlicher Ausprägung bei beiden Tiermodellen fanden, für deren Entstehung verantwortlich sind. Obwohl es in der vorliegenden Untersuchung nicht gelang, die Entwicklung bis hin zum Mikroparietalthrombus zu beobachten - was an der nur leichten Erhöhung der Blutfette liegen mag - so

scheint doch auch im Falle der Hypothyreose als Angiopathie-
modell dem Thrombozyten eine entscheidende Rolle in der Ent-
stehung obliterierender Gefäßerkrankungen zuzukommen.

F.) Z u s a m m e n f a s s u n g

Zur Induktion eines Diabetes mellitus wurde das beta - Zell - Zytostatikum Streptozotozin 7 Hanford-Miniaturschweinen sowohl intravenös, als auch subkutan und intraperitoneal zugeführt. Die intravenös applizierten Gesamtdosen variierten von 30 - 130 mg/kg KG. Bei langsamer Zufuhr des Pharmakons ließ sich dosisabhängig ein unterschiedlich schwerer Diabetes erzeugen. Jedoch waren, langsame i.v.-Applikation vorausgesetzt, mindestens 60 mg Streptozotozin/kg notwendig, um eine milde diabetische Stoffwechsellage zu erreichen.

Als günstigstes Verfahren, einen hochgradigen Diabetes hervorzurufen, erwies sich die zweizeitige, möglichst rasche Injektion von 30 + 60 mg Strept./kg intravenös im Abstand von 8 Tagen. Solches Vorgehen bewirkte einen - noch Monate später nachweisbaren - Insulinmangel mit Insulinsekretionsstarre. Trotz ausgeprägter Hyperglykämie war die Langzeitbehandlung der Tiere komplikationslos. Die Plasmaparameter Bilirubin, Cholesterin, sowie die Triglyzeride waren bei streptozotozindiabetischen Tieren signifikant erhöht. Einen geringen Anstieg zeigten die Blut- und Plasmaviskosität, sowie das Gesamteiweiß. Albumin war, möglicherweise aufgrund einer diabetischen Nephropathie, vermindert. STH-, Glucagon- und Cortisolwerte lagen jeweils im Normalbereich.

Histologische und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen von Arteriensegmenten zeigten bei streptozotozindiabetischen Tieren auffallend häufig Intimaproliferationen, sowie Adhäsionen von Thrombozyten in visköser Metamorphose auf dem Gefäßendothel. Diese Veränderungen, die bei gesunden Tieren nicht gefunden werden konnten, bei diabetischen Tieren jedoch reproduzierbar waren, gelten in der Literatur als Vorstufe zur Atherosklerose.

Der Versuch, eine endogene Hypercholesterinämie allein durch

Thyroidektomie zu erzeugen, führte bei den untersuchten Tieren ($n = 2$) zu einem nur geringgradig erhöhten Triglyzeridspiegel. Lediglich durch exogene Cholesterinanreicherung der Nahrung war auch ein Anstieg des Serumcholesterins zu erreichen. Die bei den hypothyreoten Schweinen gefundenen Gefäßveränderungen entsprachen weitgehend - nur in geringerer Ausprägung - denen der diabetischen Tiere.

Insgesamt läßt sich feststellen:

- 1.) Der Streptozototindabetes des Miniaturschweins erweist sich als geeignetes Modell zum Studium diabetischer Angiopathien.
- 2.) Die operativ induzierte Hypothyreose scheint als Angiopathiemodell beim Miniaturschwein wenig geeignet zu sein, sofern auf eine exogene Cholesterinzufütterung verzichtet wird.

G.) B i b l i o g r a p h i e

- 1.) ADAMS W.C., GAMAN E.M., FEIGENBAUM A.S.:
Breed differences in the response of rabbits to
atherogenic diets.
Atherosclerosis 16 (1972), 405 - 411.
- 2.) ANITSCHKOW N.N.:
Über die Veränderungen der Kaninchenaorta bei ex-
perimenteller Cholesterinsteatose.
Beitr. path. Anat. 56 (1913), 379.
- 3.) ARISON R.N., CIACCIO E.I., GLITZER M.S., CASSARO J.A.,
PRUSS M.P.:
Light and electron microscopy of lesions in rats
rendered diabetic with Streptozotocin.
Diabetes 16 (1967), 51 - 56.
- 4.) ARMSTRONG M.L., WARNER E.D.:
Morphology and distribution of diet-induced
atherosclerosis in rhesus monkeys.
Arch. Path. 92 (1971), 395 - 401.
- 5.) BEAUMONT J.L., BEAUMONT V.:
Immunological factors of atherosclerosis.
In: SCHETTLER G., WEIZEL A.: Atherosclerosis III,
Berlin-Heidelberg-New York, Springer (1974), p.
579 - 590.
- 6.) BEAUMONT J.L., JACTOT B., BEAUMONT V.:
L'hyperlipidémie par auto-anticorps. Une cause
d'athérosclérose.
La Presse Medicinale 75 (1967), 2315.
- 7.) BENNIE E.A., LAZARUS J.H.:
Lithium induced thyroid dysfunction.
Lancet 2 (1972), 44 - 45.
- 8.) BLOODWORTH jr. J.M.B., ENGERMAN R.L.:
Spontaneous and induced diabetic microangiopathy.
Acta diabet. lat. 8, Suppl. 1 (1971), 263.

- 9.) BÖHME H.:
Risikofaktoren bei Gefäßerkrankungen.
Ärztl. Praxis 23 (1976), 920 - 926.
- 10.) BREDDIN K.:
Die Thrombozytenfunktion bei hämorrhagischen
Diathesen, Thrombosen und Gefäßkrankheiten.
Stuttgart-New York, F.K. Schattauer (1968).
- 11.) BRETZEL W., SLIJEPCEVIC M., HELMKE K., BÜRKLE P.A.,
FEDERLEIN K.:
Morphologische Studien an der diabetischen Nephro-
pathie der Ratte.
82. Tag. Dtsch. Ges. Inn. Med., Wiesbaden (1976).
- 12.) BROSKY G., LOGOTHETOPOULOS I.:
Streptozotocin diabetes in the mouse and guinea
pig.
Diabetes 18 (1969), 606 - 611.
- 13.) BÜRGI H., GUBLER R., RADVILA A., STUDER H.:
Hypothyreose, eine Nebenwirkung der Asthmabehand-
lung mit hohen Joddosen.
Schweiz. med. Wschr. 102 (1970), 837 - 841.
- 14.) CATT K.J.:
ABC of Endocrinology. VI.: The thyroid gland.
Lancet 1 (1970), 1383 - 1389.
- 15.) CLARKSON T.B.:
Animal models of atherosclerosis.
In: BRANDLEY C.A., CORNELIUS C.E.: Advances in
veterinary science and comparative science.
New York, Academic Press 16 (1972), 151 - 173.
- 16.) CLARKSON T.B., PRICHARD R.W., NETSKY M.G., LOFLAND H.B.:
Atherosclerosis in pigeons. Its spontaneous dis-
ease and resemblance to human atherosclerosis.
Arch. Path. 68 (1959), 143.
- 17.) CONSTANTINIDES P.:
Experimental atherosclerosis.
Amsterdam, Elsevier (1965), p. 43 - 66.

18.) DAHME E.:

Das Schwein, ein Versuchstier für die experimentelle Atheroskleroserecherche.

Z. ges. exp. Med. 145 (1968), 305 - 311.

19.) DAHME E., KALICH J., KAISER E., FREYTAG VON LORINGSHOVEN K., STAVRON D.:

Studie zur Atheroskleroseentstehung beim Hanford - Miniaturschwein unter normalen und experimentellen Bedingungen.

Atherosclerosis 14 (1971), 153 - 168.

20.) FISCHER W.:

Metabolische und nierenphysiologische Veränderungen nach Injektion von beta-Pyridylcarbinol während Glucose- Fructose- und Kochsalzzufusionen beim Hanford Miniaturschwein.

Inaugural Dissertation, München (1975).

21.) FLORENTIN R.A., NAM S.C., THOMAS W.A.:

Aortic cell proliferation in swine fed cholesterol for 30 days.

Adv. Proc. 29 (1970), A 385.

22.) FÖRSTER H., MEHNERT H.:

Kohlenhydratstoffwechsel.

In: SIEGENTHALER W.: Klinische Pathophysiologie, 2. Aufl., Stuttgart, Thieme (1972), p. 69 und 72.

23.) FOWLER P.B.S., SWALE J., ANDREWS H.:

Hypercholesterinemia in borderline hypothyroidism. Stage of premyxoedema.

Lancet 2 (1970), 448 - 491.

24.) FREDRICKSON D.S., LEVY R.I., LEES R.S.:

Fat transport in lipoproteins. An integrated approach to mechanism and disorders.

New Engl. J. Med. 276 (1967), 34 - 44, 94 - 103, 148 - 156, 215 - 225, 273 - 281.

- 25.) FRENCH J.E., JENNINGS M.A., FLOREY H.W.:
Morphological studies on atherosclerosis in swine.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 127 (1965), 780 - 799.
- 26.) FRERICHS H., GREUTZFELDT W.:
Der experimentelle chemische Diabetes.
Handb. exp. Pharm. XXXII/1, Berlin-Heidelberg-New York, Springer (1971), p. 167 - 177.
- 27.) FRIEDRICH G.:
Schweine als Versuchstiere in der humanmedizinischen Forschung.
Dtsch. Ges. Wes. 23 (1968), 1143 - 1148.
- 28.) FROST H.:
Zur Pathogenese obliterierender Arterienprozesse bei Hypercholesterinämie.
Thromb. Diath. Haemorrh. (Stuttgart) 22 (1969), 351 - 359.
- 29.) FROST H., HESS H.:
II. Beobachtungen mit dem Rasterelektronenmikroskop über die Reparation von Endotheldefekten an Arterien.
Klin. Wschr. 46 (1969), 245.
- 30.) GANONG W.F.:
Medizinische Physiologie, 2. Aufl.
Berlin-Heidelberg-New York, Springer (1972), p. 490 und 332.
- 31.) GERICH J.E., LORENZI M., BIER D.M., SCHNEIDER V., TSALIKIAN E., KARAM J.H., FORSHAM P.H.:
Prevention of human diabetic ketoacidosis by somatostatin. Evidence for an essential role of glucagon.
New Engl. J. Med. 292 (1975), 985.
- 32.) GLOGOV S., ROWLEY D.A., KOHUT R.J.:
Atherosclerosis of human aortas and its coronary and renal arteries.
Arch. Path. 72 (1961), 558.

- 33.) GORDON T., SKORLIE P., KANNEL W.B.:
Section 27. Coronary heart disease, athero -
thrombic brain infarction, intermittent claudi-
cation. - A multivariate analysis of some factors
related to their incidence:
The Framingham study; An epidemiological investi-
gation of cardiovascular disease. Editors: KANNEL
W.B., GORDON T.
Superintendent of documents, U. S. Government
Printing Office, Washington D.C. 20402 (1971).
- 34.) GOTTLIEB H., LALICH J.J.:
Occurence of atherosclerosis in the aorta of
swine.
Amer. J. Pathol. 30 (1954), 851 - 855.
- 35.) GRESHAM G.A.:
Early events in atherogenesis.
Lancet 1/7907 (1975), 614 - 615.
- 36.) HALES C.N., RANDLE P.J.:
Immunoassay of insulin with insulin antibody
precipitate.
Biochem. J. 88 (1963), 137.
- 37.) HARDIN N.J., MINICK C.R., MURPHY G.E.:
Experimental induction of athero-arteriosclerosis
by the synergy of allergic injury to arteries
and lipid rich diet. III. The role of earlier
acquired fibromuscular intimal thickening in the
pathogenesis of later developing atherosclerosis.
Amer. J. Pathol. 73 (1973), 301.
- 38.) HESS H., MARSHALL M., MALLASCH M.:
Eine einheitliche Theorie der Morphogenese aller
obliterierender Angiopathien.
VASA 3 (1974), 373 - 385.
- 39.) HESS H., MARSHALL M., MALLASCH M.:
Zur Pathogenese obliterierender Arteriopathien.
Med. Welt 25 (1974), 1180.

- 40.) HEYDEN S.:
Einteilung und Diät-Therapie der Hyperlipidämien.
Dtsch. Med. Wschr. 99 (1974), 141.
- 41.) IMAI H., LEE K.T., PASTORI S., PANLILIO E., FLORENTIN R., THOMAS W.A.:
Atherosclerosis in rabbits.
J. Exp. Mol. Path. 47 (1966), 273.
- 42.) JANDER R.:
Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung an Gefäßendothelien des Miniaturschweins nach CO-Exposition.
Inaugural - Dissertation , München (1975).
- 43.) KALICH J., KRUMBACHER K., RUF B.:
Über die Erfahrung bei Zucht und Haltung, sowie einige physiologische Daten des Hanford - Miniaturschweins.
Z. ges. exp. Med. 145 (1968), 312 - 325.
- 44.) KANNEL W.B., CASTELLI W.P., GORDON T., McNAMARA P.M.:
Serum cholesterol, lipoproteins, and the risk of coronary heart disease.
Ann. Int. Med. 74 (1971), 1.
- 45.) KANNEL W.B., DAWBER T.R., FRIEDMAN G.D., GLENNON W.E., McNAMARA P.M.:
Risk factors in coronary heart disease - The Framingham Study.
Ann. Int. Med. 61 (1964), 888.
- 46.) KATZ L.N., STAMLER J.:
Experimental atherosclerosis.
Springfield, C.C. Thomas (1953).
- 47.) KNIPPING G.M.J., KOSTNER G.M., HOLASEK A.:
Studies on the composition of pig serum lipo - proteins. Isolation and characterization of different Apo - Proteins.
Biochem. biophys. Acta 393 (1975), 88 - 99.

- 48.) KRAMSCH D.M., HOLLANDER W.:
Occlusive atherosclerotic disease of the coronary arteries in monkey (*Macaca irus*) induced by diet.
Exp. Mol. Path. 9 (1968), 1 - 22.
- 49.) KRAMSCH D.M., HUVOS A., HOLLANDER W.:
A primate model for the study of coronary (athero-sclerotic) heart disease.
Circulation 42 (1970), 9.
- 50.) KRISTA L.M., WAIBEL P.E., SAUTTER J.H., SHOFFNER R.N.:
Aortic rupture, body weight, and blood pressure in the turkey as influenced by strain, dietary fat, beta-aminopropionitrile fumarate, and diethyl - stilbestrol.
Poult. Sci. 48 (1969), 1954 - 1960.
- 51.) LEE K.T., JARMOLYCH Y., KIM D.N., GRANT C., KRASNEY J.H., THOMAS W.A., BRUND A.M.:
Production of advanced coronary atherosclerosis, myocardial infarction and "sudden death" in swine.
Exp. Mol. Path. 15 (1971), 170 - 190.
- 52.) LEE K.T., KWAK Y.S.:
Lysosomal enzyme activity in aortas of swine fed cholesterol for 2 - 4 weeks.
Fed. Proc. 29 (1970), A 444.
- 53.) LLOYD G.G., ROSSER R.M., CROWE M.J.:
Effect of Lithium on thyroid in man.
Lancet 2 (1973), 619.
- 54.) LOSERT W., RILKE A., LOGE D., RICHTER K.D.:
Vergleichende biochemische Untersuchungen über die diabetogene Wirkung von Streptozotizin bei Mäusen, Ratten, Chinesischen Streifenhamstern und Meerschweinchen.
Arzneimittel Forsch. 21 (1971), 1643 - 1653.
- 55.) LUGINBÜHL H.:
Das Schwein als Tiermodell für die Arterio - skleroseforschung.
Schweiz. Med. Wschr. 100 (1970), 550.

- 56.) LUGINBÜHL H., JONES J.E.T.:
The morphology of spontaneous lesions in aged swine.
In: ROBERTS J.C.jr., STRAUS R.: Comparative atherosclerosis, New York, Harper & Row (1965), p.3.
- 57.) LUKENS F.D.W.:
Alloxan diabetes.
Physiol. Rev. 28 (1948), 304 - 329.
- 58.) LUNDBAEK K.:
Growth hormone and diabetic angiopathy.
Acta diabet. lat. 8, Suppl.1 (1971), 344.
- 59.) LUNDBAEK K., VIGGO JENSEN A., STEEN OLSEN T., ØRSKOV H., JOHANSEN K., FRANGE HANSEN A., ØSTERBY R.:
Diabetes, diabetic angiopathy and growth hormone.
Lancet 2 (1970), 131 - 133.
- 60.) LYDTIN H., PIEPER M., KUSUS T., SCHNELLER K., ZÖLLNER N.:
Die Implantation von Verweilkathetern in die Vena portae, die Vena cava, den rechten Vorhof und in den Magen des Miniaturschweins.
Z. ges. exp. Med. 149 (1969), 279 - 282.
- 61.) MANN G.V., ANDRUS S.B., McNALLY A., STARE F.J.:
Xanthomatosis and atherosclerosis produced by diet in an adult rhesus monkey.
J. Lab. Clin. Med. 48 (1956), 533 - 550.
- 62.) MARSHALL M.:
Atheroskleroseforschung heute.
Ärztl. Praxis 2 (1976), 29 - 32.
- 63.) MARSHALL M., DE QUIROS J.F., HESS H.:
Wirkung von Nikotin auf Plättchenaggregation und Blutviskosität beim Miniaturschwein in vivo.
VASA 5 (1976), 287 - 292.
- 64.) MARSHALL M., HESS H.:
Der Thrombozyt - Schlüsselfigur in der Entstehung obliterierender Angiopathien.
Colloquium Medicum 30 (1975), 1 - 12.

- 65.) MARSHALL M., LYDTIN H., KRAWIETZ W., HAGEN R., SCHUCKERT G., HESS H., ZÖLLNER N.:
Das Miniaturschwein als Versuchstier in der experimentellen Medizin.
Res. exp. Med. 157 (1972), 300 - 316.
- 66.) MARSHALL M., LYDTIN H., KRAWIETZ W., SCHUCKERT G., LOHMÜLLER R., ZÖLLNER N.:
Erfahrungen mit einer neuen Anästhesie am Miniaturschwein.
Zentralblatt Vet. Med. A. 19 (1972), 214 - 218.
- 67.) MARSHALL M., SPRANDEL U., ZÖLLNER N.:
Streptozotocindiabetes beim Miniaturschwein.
Res. exp. Med. 165 (1975), 61.
- 68.) MCGILL H.C.jr.:
"The Lesion"
In: SCHETTLER G., WEIZEL A.: Atherosclerosis III,
Berlin - Heidelberg - New York, Springer (1974),
p.27 - 38.
- 69.) MIDDLETON C.C., CLARKSON T.B., LOFLAND H.B., PRICHARD R.W.:
Atherosclerosis in the squirrel monkey. Naturally occurring lesion in the aorta and coronary arteries.
A.M.A. Arch. Path. 76 (1964), 16.
- 70.) MIDDLEY A.R., REBAR R.W., NISWENDER G.D.:
Radioimmunoassays employing double antibody techniques.
Acta Endocrinol. Suppl.142 (1969), 247 - 254.
- 71.) MINCU I.:
Diabetic macro- and microangiopathy.
Berlin, W. de Gruyter (1975).
- 72.) MINICK C.B., MURPHY G.E.:
Experimental induction of athero - arteriosclerosis by the synergy of allergic injury to arteries and lipid-rich diet. II. Effect of repeatedly injected foreign protein in rabbits fed a lipid-rich, cholesterol-poor diet.
Amer. J. Pathol. 73 (1973), 265.

- 73.) MINICK C.B., MURPHY G.E., CAMPBELL W.C.:
Experimental induction of atherosclerosis by the synergy of allergic injury to arteries and lipid-rich diet. I. Effect of repeated injections of horse serum in rabbits fed dietary cholesterol supplement.
J. of Exp. Med. 124 (1966), 635.
- 74.) MOUNT L.E.:
Alloxan diabetes in the piglet.
Nature (Lond.) 180 (1957), 344.
- 75.) MURPHY E.A., MUSTARD J.F.:
Coagulation tests and platelet economy in atherosclerotic and control subjects.
Circulation 25 (1962), 114 - 125.
- 76.) MUSTARD J.F.:
Recent advances in molecular pathology: a review. Platelet aggregation, vascular injury and atherosclerosis.
Exp. Mol. Pathol. 7 (1967), 366.
- 77.) NAM S.C., LEW W.M., JARMOLYCH T., LEE K.T., THOMAS W.A.:
Rapid production of advanced atherosclerosis in swine by a combination of endothelial injury and cholesterol feeding.
Exp. Mol. Pathol. 18 (1973), 369.
- 78.) NACHMAN R.L., WEKSLER B., FERRIS B.:
Increased vascular permeability produced by human platelet granule cationic extract.
J. clin. invest. 49 (1970), 274.
- 79.) NICHOLS C.W.jr., GAN J.C., MURTHY P.V.N., CHAIKOFF I.L.:
Monosubstances in the chicken aorta. Part 2. Changes induced by diethylstilbestrol implants or cholesterol feeding.
Atherosclerosis 14 (1971), 39 - 51.

- 80.) NICHOLS C.W.jr., LINDSAY S., CHAIKOFF I.L.:
Histochemical study of the heart and thoracic
aorta of the chick from hatch to 39 days of age.
J. Atheroscler. Res. 1 (1961), 133 - 139.
- 81.) NOVO INDUSTRIE , Mainz :
Streptozotolin - Analoge, Novo Information 8
(1975), 129 - 131.
- 82.) O'HEA E.K., LEVEILLE G.A.:
Studies of the response of pig adipose tissue to
Insulin.
Int. J. Biochem. 1 (1970), 605 - 611.
- 83.) O'NEAL R.M., THOMAS W.A., HARTROFT W.S.:
Dietary production of myocardial infarction in
rats. Anatomical features of the disease.
Am. J. Cardiol. 3 (1959), 94.
- 84.) QUARFORDT S., LEVY R.I., FREDRICKSON D.S.:
On the lipoprotein abnormality in Type III Hyper-
lipoproteinemia.
J. Clin. Invest. 50 (1971), 75.
- 85.) RATCLIFFE H.L., LUGINBUHL H.:
The domestic pig: A model for experimental athero-
sclerosis.
Atherosclerosis 13 (1971), 133 - 196.
- 86.) ROSS R., GLOMSET I.A.:
Atherosclerosis and the arterial smooth muscle
cell.
Science 180 (1973), 1332.
- 87.) SCHLIERF G., KAHLKE W.:
Fettstoffwechsel.
In: SIEGENTHALER W.: Klinische Pathophysiologie,
Stuttgart, Georg Thieme, 2. Aufl. (1973), p.151.
- 88.) SCOTT R.F., DAOUD A.S., FLORENTIN R.A.:
Animal models in atherosclerosis.
In: WISSLER R.W., GEER J.C.: The pathogenesis of
atherosclerosis, Baltimore, Williams & Wilkins
(1972).

- 89.) SHARP & DOHME GmbH:
MSD - Manual, 2. Aufl., München - Berlin - Wien,
Urban u. Schwarzenberg (1975), p.716.
- 90.) SHIMAMOTO T., SUNAGA T.:
Contraction of endothelial cells as a key mechanism
in atherogenesis.
Proc. Japan Academy 48 (1972), 633 - 699.
- 91.) SIMPSON C.F., NEILSON J.T.M.:
Aortic atherosclerosis of turkeys induced by
single treatment with diethylstilbestrol.
Atherosclerosis 17 (1973), 245 - 255.
- 92.) SIPERSTEIN M.D.:
Diabetic microangiopathy - a late manifestation
of metabolic disorder ?
Jahrestag. Dtsch. Ges. für Angiologie, Hannover
(1976).
- 93.) STEINER H., OELZ O., FROESCH E.R., WEBER E.:
Reaktionen des Pankreas bei Streptozotocindibabetes,
insbesondere der Glucagonzellen.
Schweiz. med. Wschr. 100 (1970), 595 - 596.
- 94.) STERN M.P., KALTERMAN D.G., McDEVITT M., REAVEN G.M.:
Acquired type III hyperlipoproteinemia.
Arch. intern. Med. 130 (1972), 817.
- 95.) SUNDER - PLASSMANN P.:
Durchblutungsstörungen - Grundlagen und Therapie.
Stuttgart, Ferd. Enke, 2. Aufl., (1975), p.238 - 246.
- 96.) SUZUKI M., O'NEAL R.M.:
Accumulation of lipids in the leucocytes of rats
fed atherogenic diets.
J. Lipid. Res. 5 (1964), 624.
- 97.) TAYLOR C.B., COX G.E., MANULO - ESTRELLA P., SOUTHWORTH J.:
Atherosclerosis in rhesus monkeys. II. Arterial
lesions associated with hypercholesterinemia in-
duced by dietary fat and cholesterol.
Arch. Path. 74 (1962), 16.

- 98.) TAYLOR C.B., PATTON D.E., COX G.E.:
Atherosclerosis in rhesus monkeys. VI. Fatal myocardial infarction in a monkey fed fat and cholesterol.
Arch. Path. 76 (1963), 66.
- 99.) THOMAS W.A., HARTROFT W.S.:
Myocardial infarction in rats fed diets containing high fat, cholesterol, thiouracil and sodium cholate.
Circulation 19 (1959), 65.
- 100.) UNGER H.H.:
Zur Frequenz retinaler Spätschäden bei Diabetesmanifestation im Kindesalter.
Zusammenk. Dtsch. Ophtalm. Ges., Heidelberg (1960).
- 101.) WELLS R.E., DENTON R., MERRIL E.W.:
Measurement of viscosity of biologic fluids by cone plate viscosimeter.
J. Lab. Clin. Med. 57 (1961), 646 - 656.
- 102.) WISSLER R.W., EILERT M.L., SCHROEDER M.A., COHEN L.:
Production of lipomatous and atheromatous lesion in the albino rat.
A.M.A. Arch. Path. 57 (1954), 333.
- 103.) WISSLER R.W., VESSELINOVITCH D.:
Differences between human and animal atherosclerosis.
In: SCHETTLER G., WEIZEL A.: Atherosclerosis III, Berlin - Heidelberg - New York, Springer (1974), p.319 - 325.
- 104.) WISSLER R.W., VESSELINOVITCH D., HUGHES R.H.:
A comparison of the aortic atherosclerotic response in the rhesus and stump-tailed monkeys using rations rich in vegetable fat with or without added cholesterol.
Am. J. Path. 66 (1972), 156.

- 105.) WISSLER R.W., VESSELINOVITCH D., HUGHES R.H., TURNER D.,
FRAZIER L.E.:

Atherosclerosis and blood lipids in rhesus monkeys
fed human "table prepared" diets.

Circulation 44 (1971), 2 - 57.

LEBENS LAUF

8. Febr. 1951	geboren in Fulda/Hessen als einziger Sohn des Kaufmanns Carl und seiner Ehefrau Gertude Uhlig.
1957 - 1962	Besuch der Volksschulen in Schlüchtern Hessen und Lohr am Main.
1962 - 1965	Dreijähriger Internatsaufenthalt im Melanchton - Schülerheim Königshofen i. Grabfeld mit Besuch des dortigen Realgymnasiums.
1965 - 1967	Gymnasium Lindenberg/Allgäu.
1967 - 1968	Math.-Naturw. Gymnasium Coburg/Bayern.
Anfang 1968	Übertritt in den math.-naturw. Zweig des Werdenfels - Gymnasiums in Garmisch Partenkirchen.
19. 6. 1971	Abitur am Werdenfels - Gymnasium Garmisch - Partenkirchen.
So. Sem. 1972	Immatrikulation an der Ludwig - Maximilians - Universität München als ordentlicher Studierender der Medizin. Seitdem Ablegung folgender Zwischen - prüfungen :
April 1973	Naturwissenschaftliche Vorprüfung an der LMU München.
April 1974	Ärztliche Vorprüfung (Physikum) an der LMU München.
April 1975	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung an der LMU München.
April 1977	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung an der LMU München.
April 1977 bis	Praktische Ausbildung in den Fächern Chirurgie/Urologie (Chir./Urolog. Univ.-Klinik München), Gynäkologie/Geburts - hilfe (II. Univ.-Frauenklinik München) und Innere Medizin (Westkrankenhaus Augsburg).
März 1978	



